



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN
REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**"DETERMINACIÓN DEL PODER ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL PROPÓLEO SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*
PRESENTES EN METRITIS PUERPERAL BOVINA."**

**Tesis previa a la obtención del título de
MAGISTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

Autor: Dr. Luis Rodrigo Galarza Álvarez.

Director: Dr. Saúl Landívar Abril Mg. Sc.

Cuenca – Ecuador

2013

RESUMEN

El presente trabajo investigativo titulado: "DETERMINACIÓN DEL PODER ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* PRESENTES EN METRITIS PUERPERAL BOVINA", fue realizado en la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay, República del Ecuador, cuya investigación se llevó a ejecución en el periodo comprendido entre Noviembre del 2012 y Abril del 2013. Este trabajo estuvo encaminado a evaluar la actividad antibiótica in vitro del Extracto Etanólicos del Propóleo (EEP) como alternativa natural para combatir a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (bacterias aisladas en el laboratorio bajo cultivo en agar sangre de oveja) presentes en la metritis clínica de vacas lecheras de la Victoria del Portete; esta acción se comparó con el grado de sensibilidad ocasionados por dos antibióticos comerciales que ofrecieron mayor acción antimicrobiana en placa agar como es la Amoxicilina y Acido Clavulánico; Para esto se elaboraron los Extractos Etanólicos de Propóleo al 10% y 30%; los propóleos fueron recolectados de apiarios de la zona y procesados en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca; para el antibiograma se utilizó una concentración de bacterias ajustada a la escala de Mc. Farland 0.5 y empleando el agar Muller Hinton; para el efecto se usaron sensidiscos de Amoxicilina y Ácido Clavulánico, sensidiscos de EEP al 10% y 30%, y como control el alcohol etílico de 96°. Las medidas de los halos inhibitorios generados en los tratamientos con propóleos son menores que los generados en los tratamientos con Amoxicilina y Ácido Clavulánico, para *Staphylococcus aureus*; No dan halo de inhibición en *Escherichia coli*, en tanto que los discos de sensibilidad del alcohol etílico de 96° no dan halo de inhibición. Las medidas de los halos inhibitorios del propóleos son más estables que el antibiótico. Tienen menor dispersión que la Amoxicilina y Ácido Clavulánico.

SUMARY

This research work entitle "DETERMINATION OF THE ANTIBIOTIC IN VITRO PROPOLIS ETHANOLIC EXTRACT ON *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* THIS IN BOVINE PUERPERAL METRITIS", was held in the city of Cuenca, Azuay Province, Republic of Ecuador, whose research execution was in the period between November 2012 and April 2013. This study was aimed to evaluate the in vitro antimicrobial activity of ethanol extracts of Propolis (EEP) as a natural alternative to combat *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (bacteria isolated in the laboratory under cultivation in sheep blood agar) present in the clinical metritis of dairy cows in the Victoria's Portete. This action was compared with the sensitivity caused by an antibiotic that offered greater commercial antimicrobial agar plate than Amoxicillin and Clavulanic Acid. They were produced for this ethanolic extracts of Propolis to 10% and 30% Propolis were collected from apiaries in the area and processed in the University of Cuenca. Was used for susceptibility testing of bacteria concentration adjusted to 0.5 McFarland scale and employing Muller Hinton agar. 3 sensitivity discs were used for measuring the effect of Amoxicillin and Clavulanic Acid, EEP sensitivity discs of 10% and 30%, and as a control, ethyl alcohol 96° measures of inhibitory halos generated Propolis treatments whit Amoxicillin and Clavulanic Acid, on *Staphylococcus aureus* and give no zone of inhibition on *Escherichia coli*, whereas sensitivity discs ethyl alcohol of 96°give no zone of inhibition. The inhibitory action of the halos of the two concentrates are similar Propolis have lower dispersion than the antibiotic employed. This means that the concentrates of Propolis give stable results.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	<i>i</i>
SUMARY.....	<i>ii</i>
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General:	1
Objetivos Específicos:	2
I REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1.1. PUERPERIO.....	3
1.1.1. METRITIS.....	4
1.1.2. FASES DEL PERIODO PUERPERAL.....	5
1.1.3. INVOLUCION UTERINA.....	6
1.2. ETIOLOGIA DE LAS INFECCIONES UTERINAS.....	7
1.2.1. DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES UTERINAS.....	8
1.2.2. CULTIVOS Y ANTIBIOGRAMAS.....	15
1.2.3. TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES UTERINAS.....	16
1.3. EL PROPÓLEO.....	18
1.3.1. DEFINICION Y ORIGEN DEL PROPOLEO.....	18
1.3.2. CARACTERISTICAS FISICAS DEL PROPOLEO.....	19
1.3.3. COMPOSICION QUIMICA DEL PROPOLEO.....	20
1.3.4. MECANISMO DE ACCION ANTIMICROBIANA DEL PROPOLEO.....	21
1.3.5. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE ALGUNOS FLAVONOIDES Y COMPUESTOS RELACIONADOS.....	23
II MATERIALES Y METODOS.....	28
2.1. MÉTODOS.....	28
2.1.1. UBICACIÓN Y SELECCIÓN DE ANIMALES.....	28
2.1.2. UBICACIÓN Y CLIMA.....	28
2.1.3. FORMA DE SELECCIÓN DE LOS ANIMALES.....	29
2.1.5. ELABORACIÓN DE LOS EEP (Extracto Etanólico de Propoleo) 10 y 30%.....	30
2.1.6. ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	31
2.1.7. FACTORES EN ESTUDIO:.....	32
2.1.8. DILUCIONES DEL AGENTE BACTERIANO.....	32
2.1.9. PROCEDIMIENTO.....	32
2.2. MATERIALES:	34
2.2.1. Biológicos:.....	34
2.2.2. Químicos:	35
2.2.3. Físicos:	35
2.2.4. Material de escritorio:	36

III RESULTADOS Y DISCUSION.....	37
3.1. RESULTADOS.....	37
3.2. DISCUSIÓN.....	52
IV CONCLUSIONES.....	54
V RECOMENDACIONES.....	55
VI BIBLIOGRAFÍA.....	56
ANEXOS.....	66

INDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Clasificación científica del <i>Staphylococcus aureus</i> .	11
CUADRO 2. Clasificación científica de la <i>Escherichia coli</i> .	14
CUADRO 3. Propiedades y compuestos químicos del Propoleo.	22
CUADRO 4. Clasificación de los flavonoides según Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).	23
CUADRO 5. Estructura general de antocianinas.	24
CUADRO 6. Estructura general de flavonas y flavonoles.	24
CUADRO 7. Ejemplos de flavonas.	24
CUADRO 8. Estructura de la quercetina.	25
CUADRO 9. Estructura de los ácidos cinámicos.	25
CUADRO 10. Tratamientos y repeticiones.	33
CUADRO 11. Discos de sensibilidad para antibiogramas.	35
CUADRO 12. Antibiograma de <i>Escherichia coli</i> con EEP al 10%.	39
CUADRO 13. Antibiograma de <i>Escherichia coli</i> con el EEP al 30%.	40
CUADRO 14. Antibiograma de <i>Staphylococcus aureus</i> . Con EEP al 10%.	41
CUADRO 15. Antibiograma de <i>Staphylococcus aureus</i> Con EEP al 30%.	42
CUADRO 16. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Pruebas de igualdad de las varianzas del EEP al 10% y La Amoxicilina y Ácido Clavulánico.	43
CUADRO 17. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Igualdad de medias., T de dos muestras para Amoxi. Vs. EEP 10%.	45
CUADRO 18. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Tabla ANOVA.	45
CUADRO 19. Prueba Estadística (obtenidos con el programa Minitab):	47
CUADRO 20. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Igualdad de medias., T de dos muestras para Amoxi. Vs. EEP 30%.	48
CUADRO 21. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab):	49
CUADRO 22. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Prueba de diferencia de medias entre el EEP al 10% y el EEP. Al 30%.	50

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Bacteria <i>S. aureus</i> escapando de la destrucción por Leucocitos humanos (Wikipedia, 2012).....	10
FIGURA 2. <i>S. aureus</i> , micrografía electrónica de barrido, color artificial (Wikipedia, 2012).	10
FIGURA 3. Micrografía electrónica, de baja temperatura, de un cúmulo de bacterias <i>E. coli</i> ampliado 10.000 veces. Cada cilindro redondeado es un individuo (Wikipedia, 2012).	13
FIGURA 4. Cuantiles. (Wikipedia, Medidas de posición no central, 2012).....	33

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO 1. Prueba de igualdad de varianzas para el EEP al 10%, Amoxicilina y Ácido Clavulánico.	44
GRAFICO 2. Caja de comparación de la mediana de la medida de los halos producidos por los Tratamientos del EEP al10% y Amoxicilina con Ácido Clavulánico sobre Staphylococcus aureus.	46
GRAFICO 3. Prueba de igualdad de varianzas entre el EEP 30% y la Amoxicilina con Ácido Clavulánico.	47
GRAFICO 4. Caja de comparación de la mediana de la medida de los halos producidos por los Tratamientos del EEP al 30% y Amoxicilina con Ácido Clavulánico sobre Staphylococcus aureus.	50
GRAFICO 5. Caja de comparación de la mediana de la medida de los halos producidos por los Tratamientos del EEP al10% y el EEP. Al 30% sobre Staphylococcus aureus.	51



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, **Luis Rodrigo Galarza Alvarez**, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN DEL PODER ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* PRESENTES EN METRITIS PUERPERAL BOVINA”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Magíster en Reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, mayo 29 del 2013

Luis Galarza Alvarez
0103305405

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Luis Rodrigo Galarza Alvarez, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN DEL PODER ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* PRESENTES EN METRITIS PUERPERAL BOVINA**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, mayo 29 del 2013

Luis Galarza Alvarez
0103305405

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103
Cuenca - Ecuador

Dr. Saúl Landívar Abril, MSc.

CERTIFICA:

Que, una vez que he acompañado en el proceso de desarrollo de la Tesis:
“DETERMINACIÓN DEL PODER ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO SOBRE Staphylococcus aureus y Escherichia coli PRESENTE EN METRITIS PUERPERAL BOVINA”, realizada por el Dr. Luis Galarza Alvarez, me permito autorizar su presentación.

Cuenca, mayo 29 del 2013

Atentamente,



Dr. Saúl Landívar Abril, MSc.
DIRECTOR DE TESIS

El Tribunal de Grado

CERTIFICA:

Que ha procedido a revisar minuciosamente el Trabajo de Tesis:
**“DETERMINACIÓN DEL PODER ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL PROPÓLEO SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* PRESENTE EN METRITIS PUERPERAL BOVINA”**, realizada por el Dr. Luis
Galarza Alvarez, quedando autorizada su presentación.

Cuenca, mayo 29 del 2013

Atentamente,



Dr. Romeo Sánchez Molina, MSc.
PRÉSIDENTE TRIBUNAL



Dr. Luis Ayala Guanga, PhD.
MIEMBRO TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Saúl Landívar. Como Director de tesis,

Al Dr. Edwin Galindo, por su aporte en la estadística.

A las Dras. Del laboratorio Vetelab, por su colaboración en los análisis de laboratorio,

Al Dr. Jaime Maldonado, por su ayuda en las pruebas de laboratorio,

A los Dres. Johnny Narváez y Rosendo Rojas, por el apoyo incondicional,

A los Dres. Miembros del Tribunal,

Al Dr. Romeo Sánchez, Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias,

A la Universidad De Cuenca, por abrirme las puertas para la formación de mi profesión,

Y a todas las personas que hicieron posible la realización de éste trabajo.

DEDICATORIA

A mi Dios, por su infinita bondad y amor al darme salud y vida para alcanzar mis sueños.

A mi mamá, hermanas, novia, familia, por ser siempre el apoyo incondicional en las buenas y en las malas en este transitar por esta bella tierra.

A mí amada patria el Ecuador., y mi encantadora ciudad de Cuenca.

INTRODUCCIÓN

La metritis clínica bovina es una inflamación e infección del útero y es una de las principales causas de infertilidad en vacas, tiene una incidencia del 5 al 35 % (Alvarado Cerezo, 2008). Por ende hay descarte precoz de animales en producción, repercutiendo de manera negativa en la economía del empresario-ganadero; desde hace muchos años empresas farmacéuticas han venido desarrollando diferentes tratamientos, tanto antibióticos, como hormonales o la combinación de ambos para tratar esta patología, al igual se han desarrollado muchas investigaciones a nivel de varias Universidades , y laboratorios, alrededor del mundo, con la finalidad de tratar la metritis clínica de una forma adecuada logrando una recuperación satisfactoria del paciente.

Sin embargo hay una pérdida en la producción de leche por los residuos de antibióticos y los días de descarte que exigen las plantas comercializadoras por implicaciones con la salud pública.

De tal manera en esta investigación se determinó el efecto in vitro del EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPOLEO (EEP) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* dos de los principales agentes causales de la metritis puerperal bovina, y por lo tanto aportar al tratamiento de esta enfermedad como un enfoque de terapia alternativa.

Para el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Evaluar la actividad antibiótica del EEP (Extracto Etanólico del Propóleo) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* in vitro presente en metritis clínica bovina.

Objetivos Específicos:

- Realizar un cultivo y antibiograma en placa Agar de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en la metritis clínica de vacas lecheras en la Victoria del Portete, para medir el grado de sensibilidad a antibióticos comerciales como: Amoxicilina y Acido Clavulánico, Cefalexina, Sulfa trimetoprim, Gentamicina, Lincomicina, Tetraciclina, Cloxacilina, Enrofloxacin y Neomicina.
- Elaborar el EEP (Extractos Etanólicos de Propoleo) al 10% y 30%, en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.
- Medir la actividad antibiótica in vitro del EEP al 10% y 30% frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en metritis bovina, y comparar sus halos de inhibición contra 2 antibióticos comerciales que ofrezcan mayor sensibilidad microbiana en placa agar.

I REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. PUERPERIO.

Por puerperio se entiende al periodo que transcurre desde el parto hasta que los órganos genitales, y el estado general de la hembra vuelven al ordinario anterior a la gestación. Constituye un importante periodo en la vida reproductiva de las hembras, porque influye enormemente sobre la fertilidad subsecuente de estas (Brito Capallejas , 1999) (Alvarado Cerezo, 2008).

Mientras la vaca amamanta a su cría, la hembra recién parida hace una serie de reajustes fisiológicos y anatómicos en el útero y ovarios para restablecer su capacidad reproductiva, la recuperación y funciones normales del útero después del parto depende de varios factores como son:

- a. Las contracciones miométriales.
- b. Eliminación de infecciones bacterianas
- c. Regeneración del endometrio (Hafez, 1996) (Alvarado Cerezo, 2008).

Antes de iniciar con el tema de la metritis es necesario hacer un análisis sobre el puerperio o periodo de espera voluntario de la vaca después del parto y antes de su primer servicio, que es muy necesario para que anatómica e histológicamente se recupere el útero para una nueva gestación, el puerperio de la vaca es un proceso de carácter séptico en el que están presentes muchos agentes infecciosos, el útero está sujeto a sufrir infecciones, pero estas infecciones tienden a ser auto limitantes debido a factores como la inmunidad de la madre y el grado de virulencia de los patógenos, además otros factores como retención placentaria, infecciones secundarias, partos distócicos, enfermedades metabólicas, etc. (Alvarado Cerezo, 2008).

1.1.1. METRITIS.

La metritis aguda es una de las principales enfermedades posparto que se presenta en granjas lecheras. La inflamación de las paredes del útero causada por infecciones bacterianas que usualmente ocurre durante las primeras 2 semanas después del parto. La infección esta generalmente asociada con bacterias coliformes. En EEUU revelan que al menos un 25% de las vacas frescas (recién paridas) sufren metritis clínica pero el porcentaje aumenta al 80% cuando las vacas sufren de retención placentaria, también las vacas que sufrieron problemas al parto y/o requirieron asistencia son más propensas a sufrir de metritis (Peña, 2009).

(Blanc., 2008). Dice que la ocurrencia de la retención placentaria, la metritis y la endometritis, en vacas lecheras depende de la función inmunitaria en el periodo de transición, la retención placentaria afecta entre un 5 al 10 % de las vacas y aumenta grandemente las posibilidades de endometritis y metritis tal cual lo había indicado (Peña, 2009).

Siempre es importante en una explotación lechera realizar los chequeos postpartos oportunos para detectar el normal funcionamiento del útero y dar los tratamientos adecuados y a tiempo para poder controlar la prevalencia de endometritis durante el periodo postparto, es importante realizar los primeros chequeos postparto a partir de los 15 días después del mismo y hasta los 60 días, para dar un tratamiento oportuno, ya que si presentan metritis después de los 60 días postparto el periodo de espera voluntaria se va a extender y vamos a tener un número mayor de días abiertos con sus consecuentes perjuicios económicos (Kolke, 2009).

Las infecciones puerperales son la causa de las mayores pérdidas económicas en la explotación de la ganadería de leche.

Estas fueron divididas en:

- a. Pérdidas a corto término.- están asociadas a enfermedades sistémicas y se producen a principios del puerperio, cuando son frecuentes los cuadros de Hipertermia y anorexia que causan pérdidas de peso y disminución de la producción láctea y algunas vacas pueden desarrollar un cuadro séptico agudo, *la metritis puerperal séptica*, que constituye una seria amenaza para la vida del animal.
- b. Pérdidas a largo término.-están representadas por la disminución de la eficiencia reproductiva e incremento del desecho de animales por trastornos reproductivos, lo que se traduce en reducción de la producción de leche y de terneros, mayores costos de inseminación reducción del progreso genético al causar desecho de animales valiosos y disminución de las posibilidades de desecho voluntario (Brito Capallejas et al, 2001).

Se dice que la metritis pertinente es aquella que en el chequeo ginecológico encontramos material purulento en el espéculo, y esta metritis, nos puede dar una disminución de la preñez de hasta un 60% (Kolke, 2009).

1.1.2. FASES DEL PERIODO PUERPERAL.

Al puerperio se lo puede dividir en 3 fases: precoz, intermedia y post ovulatoria, esta clasificación tiene la ventaja, de considerar los aspectos clínicos, sin olvidar el estado endocrino, factor de gran importancia por influir no solo en el pronóstico, sino también en las indicaciones terapéuticas y la respuesta a los medicamentos que se empleen.

1.1.2.1. Fase Precoz.

Se extiende desde el parto hasta cuando la hipófisis es sensible al factor de liberación gonadotropico (GnRH), dura de 8 a 14 días en las vacas lecheras y durante ella los niveles de estrógeno y de progesterona son muy bajos.

1.1.2.2. Fase Intermedia.

Comienza cuando la hipófisis es sensible a la (GnRH), termina con la primera ovulación, tiene una duración muy variable, se da entre la 3ra y 4ta semana llegando en ocasiones hasta la 9na semana o más esto va a depender básicamente de su estado nutricional, las infecciones puerperales, la naturaleza de la flora bacteriana uterina y el estatus endocrino.

1.1.2.3. Fase Post-ovulatoria.

Sucede a la ovulación y se extiende hasta que la involución uterina termina (Brito Capallejas et al, 2001).

1.1.3. INVOLUCION UTERINA.

Garantiza la involución de este órgano a su nivel inicial, además los cambios propicios para una nueva gestación, las contracciones del útero tienen todavía durante las 14 horas después del parto la misma duración y frecuencia que durante la expulsión de la placenta (8 -10 contracciones cada 30 minutos).

Después del parto el peso aproximado del útero es de 10 Kg. Y deberá regresar una vez transcurrida la involución a su peso original (antes de la gestación) de 1 Kg (Hincapié et al., 2005).

1.2. ETIOLOGIA DE LAS INFECCIONES UTERINAS.

La etiología es multifactorial. Se ha considerado que la enfermedad se desencadena por la combinación de factores como: La insuficiencia de la involución uterina normal después del parto, a menudo, sin retención de membranas fetales e infección del útero. Es frecuente la flora bacteriana mixta, que incluye microorganismos como *Escherichia coli*, *Actinomyces* (*Corynebacterium*) *pyogenes*, especies de *Staphylococcus* y de *Streptococcus*, *Pseudomonas* *eruginosa*, especies de *Proteus*, y en ocasiones especies de *Clostridium* (Blood & Radostits, 1992) (Alvarado Cerezo, 2008).

También existen varias enfermedades específicas asociadas con la metritis o la endometritis. Estas comprenden la brucelosis, la campilobacteriosis, y la tricomoniasis. En la mayoría de ocasiones la endometritis es el resultado de infecciones inespecíficas (Aiello, 2000) (Duran Ramirez, 2006).

Los factores predisponentes para causar la metritis son varios y entre ellos tenemos:

- a. Vacas primíparas.
- b. La estación del año para países de 4 estaciones, para nosotros (Ecuador invierno y verano) presencia de partos gemelares.
- c. La retención placentaria.
- d. La edad de la vaca.
- e. La condición corporal.
- f. Si hay o no presencia de fiebre de leche y por lo tanto se recomienda monitorear la temperatura por vía rectal de la vaca y por varios días después del parto (Benzaquen ME, 2007).

1.2.1. DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES UTERINAS.

Para identificar con precisión la metritis postparto se debe hacer una buena anamnesis como si se presentó un parto distócico o eutócico, grado de manipulación efectuado en el mismo, si se presentó retención placentaria, sistema de manejo y alimentación, condiciones estresantes, alteraciones clínicas de importancia diagnóstica, unida a las características de los loquios y el volumen del útero en relación con el tiempo transcurrido del periodo puerperal (Hincapié S et al., 2008).

1.2.1.1. Los loquios.

Se llaman loquios al líquido que se acumula en el útero normalmente después del parto está compuesto por células de descamación del útero, secreciones de las glándulas de la mucosa uterina, glóbulos rojos, leucocitos, y bacterias. El volumen normal de este contenido es de 1,5 litros al segundo día postparto; en 2 semanas se reduce a 400ml. Para desaparecer completamente a las 3 semanas (Galina & Valencia, 2009).

El Diagnóstico también se lo puede hacer por palpación rectal, el examen del útero tiene importancia capital en ginecología se ejecuta con mucho éxito y fácilmente, la exploración se puede extender a los oviductos, a los ovarios y los ligamentos (Vatti, 1969); (Cruz Barraqueta, 2009).

El desarrollo de la enfermedad uterina de la vaca después del postparto y con su consecuente metritis depende básicamente la inmunidad de la vaca, así como las especies y el número de bacterias (carga o desafío) Una gran cantidad de bacterias Gram positivas y gram negativas así como aerobios y anaerobios pueden ser aisladas de un útero postparto temprano. La etiología de la metritis es multifactorial y, generalmente la flora bacteriana involucrada es mixta siendo frecuente el aislamiento de *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces pyogenes*, *Escherichia coli* y diversas especies de *Streptococcus*. El uso de antimicrobianos de amplio espectro es habitual en el

tratamiento de estas infecciones, lo que ha permitido la aparición de cepas resistentes (Cayul, 2003); (Cruz Barrazueta, 2009).

Las infecciones uterinas son comunes en la vaca y la yegua como una secuela de retención de membranas fetales y distocia.

La Endometritis.- es la inflamación del endometrio.

La Metritis.- es la inflamación de todo el espesor del útero.

La Piómetra es la acumulación de exudado purulento dentro de este órgano.

La mayor parte de las infecciones uterinas conocidas afectan a las vacas lecheras, y son diversas las bacterias que intervienen (Hafez & Hafez, 2002); (Alvarado Cerezo, 2008).

1.2.1.2. Bacterias.

Son organismos unicelulares microscópicos de tamaño próximo a 1 micra, de forma variable, integrados por: membrana, citoplasma, sustancia nuclear y en algunos casos capsula y flagelos. La reproducción es por fisión binaria y ciertas especies poseen la capacidad de desarrollar formas de resistencia llamadas esporos.

Para que una determinada especie bacteriana origine una enfermedad infecciosa se requieren varias condiciones, número suficiente de individuos, capacidad invasiva (ingreso y multiplicación dentro del animal atacado) y capacidad patógena (alteración del organismo huésped) (Villena Fernandez, 2008).

Existen dos bacterias de las muchas que están presentes en la metritis, y que además son causa de la misma, revisamos a continuación.

1.2.1.2.1. *Staphylococcus aureus*.

Los estafilococos son células esféricas u ovoides, agrupadas generalmente en racimos, aunque en los medios líquidos se ven con frecuencia parejas y cadenas cortas.

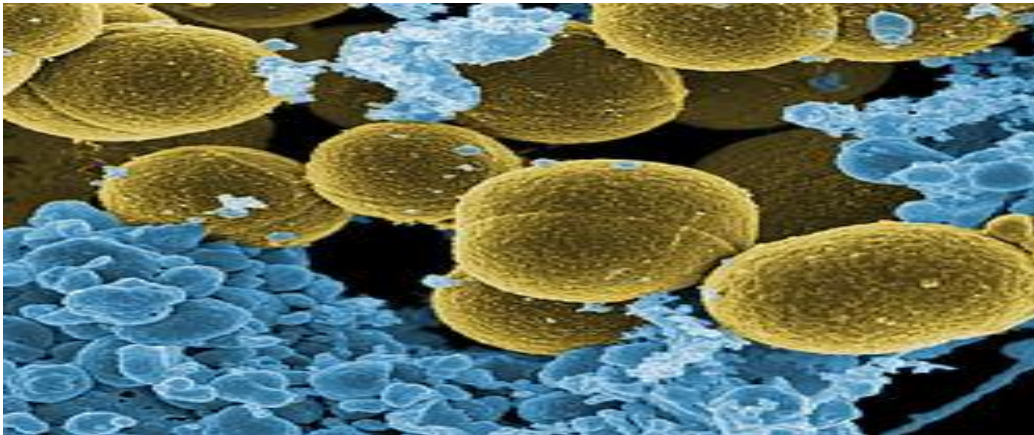


FIGURA 1. Bacteria *Staphylococcus aureus*. Escapando de la destrucción por Leucocitos humanos (Wikipedia, 2012).

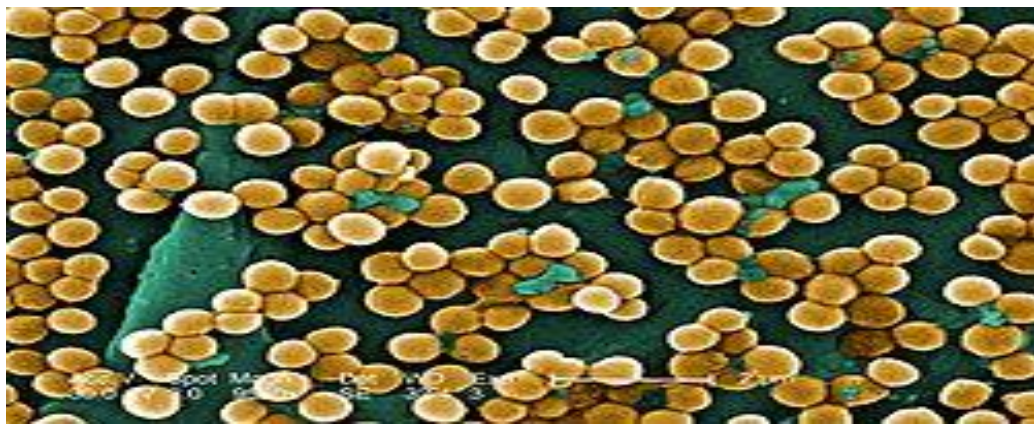


FIGURA 2. *Staphylococcus aureus*., micrografía electrónica de barrido, color artificial (Wikipedia, 2012).

CUADRO 1. Clasificación científica del *Staphylococcus aureus*.

Reino:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Staphylococcaceae
Género:	Staphylococcus
Especie:	S. aureus
Nombre binomial	
Staphylococcus aureus	
Rosenbach 1884	

Elaborado por: (Wikipedia, 2012).

No forman esporos, son inmóviles, no producen capsulas y son Gram positivos. Elaboran pigmentos insolubles en el agua, de color blanco, amarillo o naranja, Son anaerobios y facultativos, licuan la gelatina y fermentan ciertos carbohidratos produciendo acido. Estos gérmenes se hallan en los procesos supurados del hombre y los animales.

Los micrococos fueron demostrados por Ogston, en 1881, en el pus y, en 1883, el mismo autor los dividió en dos grupos: *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Merchant & Packer, 1970); (Wikipedia, 2012).

Puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la entero toxina estafilocócica secretada por la bacteria.

Las cepas habituales de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la penicilina, dejando como los antibióticos más eficaces para combatirlos a los amino glucósidos, las Cefalosporinas, la Oxacilina o la Nafcilina. Además de la administración del tratamiento antimicrobiano correspondiente, puede ser conveniente, en función del caso, la eliminación de puertas de entradas como catéteres venosos permanentes o drenajes quirúrgicos (Wikipedia, 2012).

1.2.1.2.2. *Escherichia coli*.

El coli es un bacilo grueso (1,5 por 4 micras) gramnegativo. La mayoría de las cepas son móviles por poseer los flagelos peritricos típicos de las entero bacteriáceas.

Hay también cepas inmóviles. Algunas forman una capsula de polisacárido. La estructura celular de muchas se caracteriza por la posesión de fimbrias y de pelos sexuales, así como de plásmidos en el citoplasma, los cuales son responsables de muchas actividades biológicas (adhesión, fermentación de azúcares, producción de colicina, hemolisina, y entero toxina y resistencia a los antibióticos, metales pesados y luz ultravioleta) (Nicolet, 1986).

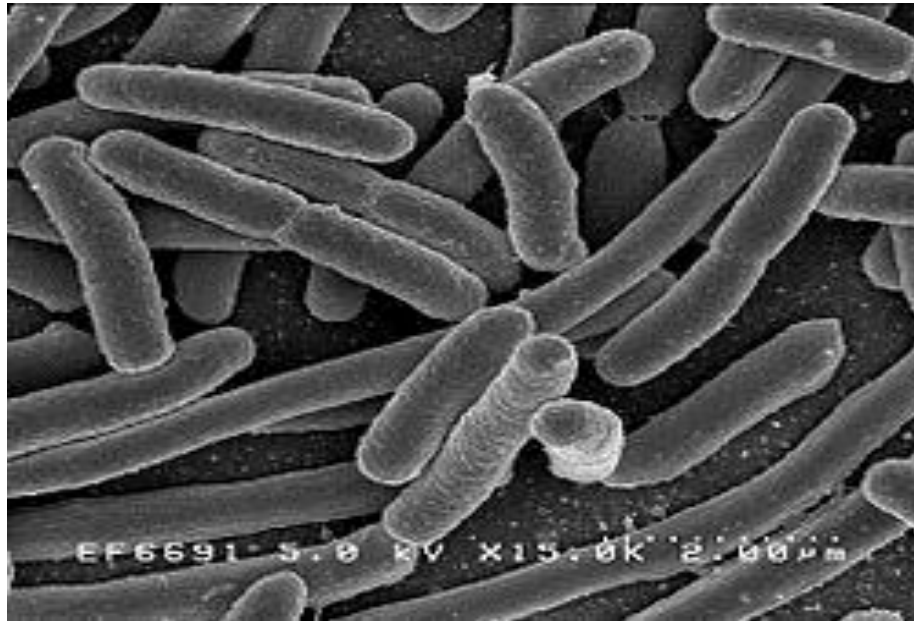


FIGURA 3. Escherichia coli ampliado 10.000 veces.



FIGURA 3. Micrografía electrónica, de baja temperatura, de un cúmulo de bacterias *E. coli* ampliado 10.000 veces. Cada cilindro redondeado es un individuo (Wikipedia, 2012).

CUADRO 2. Clasificación científica de la *Escherichia coli*.

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	<i>Escherichia</i>
Especie:	<i>E. coli</i> ((<i>E. freundii</i>))
Nombre binomial: <i>Escherichia coli</i>	

Elaborado por: (Wikipedia, 2012).

La *Escherichia coli*, en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de los mamíferos sanos. Es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. En individuos sanos, es decir si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes. En humanos, la *Escherichia coli* coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida.

La *Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extra intestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa.

La *Escherichia coli* está dividida por sus propiedades virulentas, pudiendo causar diarrea en humanos y otros animales. Otras cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad. En muchos países ya hubo casos de muerte con esta bacteria. Especialmente les da a niños entre 1 y 8 años. Causado generalmente por la contaminación de alimentos, y posterior mala cocción de los mismos, es decir, a temperaturas internas y externas menores de 70 °C.

El uso de antibióticos es poco eficaz y casi no se prescribe. Para la diarrea se sugiere el consumo de abundante líquido y evitar la deshidratación. Cuando una persona presenta diarrea no debe ir a trabajar o asistir a lugares públicos para evitar el contagio masivo. Sin embargo en algunas patologías como la pielonefritis hay que considerar el uso de alguna cefalosporina endovenosa (Wikipedia, 2012).

1.2.2. CULTIVOS Y ANTIBIOGRAMAS.

En microbiología, un cultivo es un método para la multiplicación de microorganismos, tales como bacterias, hongos y parásitos, en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado, para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades en medicina humana y veterinaria (Wikipedia, 2013).

El antibiograma se lo realiza en un laboratorio y es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos, es considerado como antimicrobiano cualquier sustancia con capacidad de matar o al menos inhibir el crecimiento

de los microorganismos y que sea susceptible de utilización como tratamiento en los pacientes. Pueden ser naturales, sintéticos o semisintéticos. La historia moderna de los antibióticos comienza con el descubrimiento de sustancias presentes en unos microorganismos capaces de matar a otros. La utilización de antibióticos supuso un avance enorme en la esperanza de vida de las personas que padecían procesos infecciosos, pero desgraciadamente también supuso un aumento en los niveles de resistencia antibiótica (Wikipedia, 2013).

1.2.3. TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES UTERINAS.

(Russe, 1987). En su texto del parto en el establo y en el campo dice que siempre es necesario después del parto mantener a la vaca en un lugar limpio y sin estrés como medida profiláctica para evitar complicaciones posteriores y tratamientos innecesarios.

Además la exploración vaginal y el tratamiento de la endometritis, cuando es necesario, son una parte importante de la rutina del control de fertilidad del rebaño, sobre todo en el ganado lechero. La prevención depende de evitar la distocia, corregir la nutrición de la madre, especialmente en el periodo cercano al parto, controlar las enfermedades metabólicas y mantener una higiene adecuada en el parto (Blowey & Weaver, 2006).

Una vaca postparto normal resuelve esta infección uterina con la involución rápida del útero y el cierre del cuello uterino; el tratamiento de la endometritis y metritis en bovinos debe orientarse hacia la mejora de la fertilidad.- El antibiótico debe ser activo contra los principales patógenos uterinos y debe mantener su actividad en el entorno del útero, no debe inhibir las normales defensas del útero y no debe ser irritante, también se pueden usar hormonas pero es muy importante tener el conocimiento necesario (Department of Surgery and Obstetrics, 2008).

Pocas enfermedades tienen diversos tratamientos que las infecciones uterinas, la terapia ideal debe:

Eliminar las bacterias del útero, no inhibir el mecanismo de defensa uterino, no causar adulteraciones de la leche o de la carne, destinada al consumo humano.

Se debe tomar en cuenta que la recuperación clínica sin recuperación de la fertilidad es de escaso valor. Actualmente la mayoría de tratamientos fallan en cumplir uno o más de estos aspectos. La terapia antimicrobial intrauterina, como se usa hasta ahora, falla en la mayoría de ellos.

Hoy día se buscan alternativas de tratamientos que cumplan los citados requisitos, en especial la no contaminación de la leche, debido al peligro que representan los residuos de antibióticos en los tejidos, los que afectan la carne y la leche, y la gran pérdida económica que representa el tener que desechar para el consumo humano la leche proveniente de vacas que en esos momentos se encuentran precisamente en un periodo de alta producción (Brito Capallejas et al, 2001).

1.3. EL PROPÓLEO.

1.3.1. DEFINICION Y ORIGEN DEL PROPOLEO.

El término de Propóleo o Propolis proviene del griego PRO: "Delante de" y POLIS: "Ciudad", lo que significa "delante de la ciudad" (Vazquez, 2011); (Sammataro & Avitabile, 2005).

El Propóleo es una sustancia resinosa producida por las abejas melíferas, que lo utilizan como una defensa para combatir a los intrusos en la colmena. Este producto tiene propiedades terapéuticas relevantes que han venido siendo utilizadas desde tiempos ancestrales. Hoy en día el propóleo está creciendo en importancia como producto terapéutico solo o incluido en algunas medicinas, productos homeopáticos y cosméticos

El Propóleo está siendo producido a lo largo y ancho del mundo por las abejas melíferas, estas usan la flora que se encuentra alrededor de sus colmenas para elaborar este producto, sin embargo la composición química podría variar de acuerdo a la flora (Miguel MG, 2011); (Fernandez Jr et al, 1995); (Chaillou et al, 2004); (Mendizabal, 2005); (Sanchez R., 2003); (Espinoza R., 1997).

La participación de la abeja hace que su composición experimente modificaciones respecto las resinas vegetales, pudiendo considerarse producto de origen mixto, vegetal y animal. La abeja, al secretar beta-glucosidasa durante la recolección y procesamiento del propóleo, hidroliza los heterosidos de flavonoides a gliconas, mejorando la acción farmacológica del producto y así produce cambios físico químicos del mismo (Vázquez, 2010).

Las investigaciones recientes tanto en el campo de la química y la farmacología del propoleo han permitido su empleo más amplio y eficaz en el mejoramiento de la salud humana, debido a su actividad biológica suigeneris y su capacidad de ser un producto natural capaz de comportarse como un producto vivo con posibilidades de establecer múltiples combinaciones

sinérgicas, gracias a su riqueza de principios activos que en muchos casos superan los 150 constituyentes (Alvarez M., 2012).

El Propóleo ocupa un lugar destacado dentro de la Apiterapia, capaz por si solo de reunir a especialistas de tantos países en los diferentes congresos mundiales celebrados en honor al propóleo. Hasta ahora los principales usos que se le ha dado al propóleo se vinculan a la capacidad antimicrobiana, cicatrizante y antiinflamatoria. Pero las propiedades que le reservan un espacio de trascendencia insospechada son la antioxidante, Inmuno estimulante y la citotóxica.

En los últimos años se ha reactivado el interés sobre el propóleo, debido al significado que han alcanzado los antioxidantes en la medicina preventiva.

La potente capacidad antioxidante le permitirá al propóleo ganar espacio en la prevención de enfermedades de gran incidencia en la sociedad moderna como es la aterosclerosis, en particular el infarto del miocardio, principal causa de mortandad. Importantes estudios epidemiológicos realizados en Europa y Japón muestran que las poblaciones con mayores consumos de flavonoides, principales componentes del propóleo, tienen menor mortandad por enfermedad coronaria. (Hertog y col, 1995) (Arguello et al, 2008).

1.3.2. CARACTERISTICAS FISICAS DEL PROPOLEO.

El propóleo varía sus características físicas dependiendo del área y del tipo de vegetación que este circundando el apiario.

Su consistencia es suave entre los 20 a 45 grados centígrados, flexibles y adhesivos, pero al enfriarse se endurece y se hace quebradizo alrededor de los 15 grados. Cuando esto ocurre a temperaturas de congelación, no recupera sus anteriores características. A más de 45 grados cada vez son

más pegajosos se vuelven líquidos alrededor de los 60 grados, aunque hay casos que no son líquidos hasta los 100 grados centígrados.

El disolvente más usado para su extracción comercial es el alcohol etílico, usándose también el éter, el glicol y el agua. La mayoría de sus componentes antibacterianos son solubles en agua y alcohol. (Polanio, C. s/f); (Luna Limaico, 2011).

1.3.3. COMPOSICION QUIMICA DEL PROPOLEO.

Su composición es compleja, se han identificado aproximadamente 200 compuestos diferentes.

Resinas y Balsamos.....	50-55%
Cera.....	25-35%
Aceites Volátiles.....	10%
Polen.....	5%
Sustancias orgánicas y minerales.....	5%

(Necato Vinueza, 2005); (Pérez Piñeiro, 2007).

Sin embargo en el último congreso mundial de apicultura y apiterapia Apimondia 2011 celebrado en Buenos Aires Argentina, varios artículos científicos concernientes al Propóleo y a su actividad, han demostrado que a pesar de la variabilidad de flora a nivel mundial, el Propóleo generalmente tiene resultados parecidos en cuanto a su uso terapéutico (Galarza., 2011); (Aguiar, 2011).

Tal es así que en Uruguay la doctora Química Alejandra Rodríguez y su equipo de trabajo se han dedicado a estandarizar el Propóleo uruguayo, en este estudio fue posible clasificar las muestras de acuerdo a su origen geográfico, conociendo la variación entre las muestras y su comparación con

los perfiles químicos de propóleos de otras regiones se puede perfilar una huella química de los propóleos uruguayos con certificado de origen (Galarza., 2011); (Rodríguez, 2011).

APITER Ltda. Es una empresa Uruguay que desde 1975 ha mostrado un fuerte compromiso con la investigación, el desarrollo tecnológico y la producción de fármacos apiterápicos, que lo ubican como líder de este sector de la industria farmacéutica a nivel regional e internacional.

Como resultado de estas investigaciones, en 1980 APITER Ltda. Lanzo al mercado farmacéutico uruguayo su primera línea de medicamentos producidos en base a una materia prima de origen natural: Propóleos.

Por otra parte la importancia del propóleo como principio terapéutico antimicrobiano está avalada por numerosos estudios científicos, experimentales y clínicos, realizados en los EEUU, Francia, Checoslovaquia, Rumania, Cuba, Japón y Uruguay, entre otros Países.

1.3.4. MECANISMO DE ACCION ANTIMICROBIANA DEL PROPOLEO.

La compleja composición le confiere al propoleo capacidad antibacteriana, antimicótico y antiviral (Arguello et al, 2008).

Algunos estudios han reportado que ciertos flavonoides presentan actividad biológica contra microorganismos orales y mencionaron que el propóleo inhibe in vitro la actividad de la formación del glucano y la glucosiltransferasa demostrando la actividad antibacteriana contra el *Staphylococcus mutans*. Y *Sobrinus*. (Tovalino F et al, 2010).

CUADRO 3. Propiedades y compuestos químicos del Propoleo.

PROPIEDAD	COMPUESTO QUÍMICO
Antimicótico	Pinocembrina, ácido acético y caféico
Antibacterial	Pinocembrina, Kaemferol y ácido caféico
Antiséptico	Ácido Benzoico
Antiviral	Ácido caféico, luteolina y quercetina
Antimutagénica	Ácido ferúlico, ácido cinámico y ácido coumárico
Citotoxicidad e inhibición de tumores	Ácido Caféico, fenetil ester, quercetina y crisina
Anestésico local	Pinocembrina
Antihemorrágico	Flavonoides
Curación de heridas	Ácidos Fenólicos y flavonoides
Efecto aglutinante	Ácido Ferúlico
Estimula la mitosis y aumenta la biosíntesis de las proteínas	Arginina
Curación de úlceras gastroduodenales	Luteolina, apigenina, pinocembrina y galangina
Histaminopectica	Quercetina
Antioxidante	Flavonoides, ácido caféico y fenetil ester
Antiinflamatorio	Flavonoides y ácido caféico
Espasmolítico	Quercetina y Kaempferide
Promueve el desarrollo de colágeno y elastina	Ácido ferúlico

Elaborado por: (Vázquez, 2010).

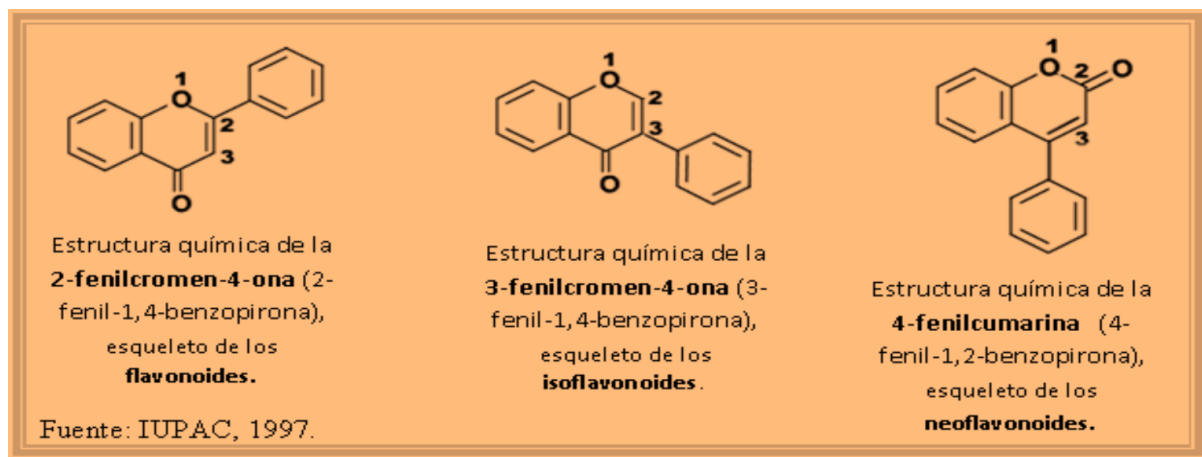
Gri Mirzoeva y Shanin RN (1997) informan que el ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, de esta manera inhiben la motilidad bacteriana, haciéndola más vulnerable al ataque del sistema inmunológico y potenciando los ATB. (antibióticos).

Previamente se determinó que el propóleo desorganiza el citoplasma, la membrana citoplasmática y la pared celular causando bacteriólisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica (Arguello et al, 2008).

El secreto del uso del propóleo en medicina humana y veterinaria, injertos y colmenas y en la preparación de productos farmacéuticos radica en sus propiedades antimicrobianas, bacteriostáticas y bactericidas, proporcionadas por los ácidos oxibenzoico, metoxibenzoico, cafeico, ferúlico, los sesquiterpenos (particularmente el bisabolol) y las flavonas (principalmente, la galangina) (Asís, 1991).

1.3.5. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE ALGUNOS FLAVONOIDES Y COMPUESTOS RELACIONADOS.

CUADRO 4. Clasificación de los flavonoides según Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC)



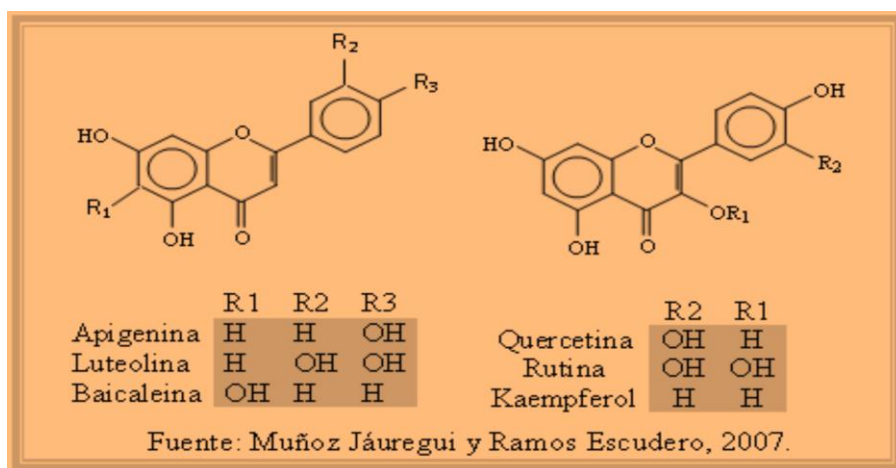
Fuente: (Vazquez, 2011); (Elaborado por: IUPAC, 1997).

CUADRO 5. Estructura general de antocianinas.



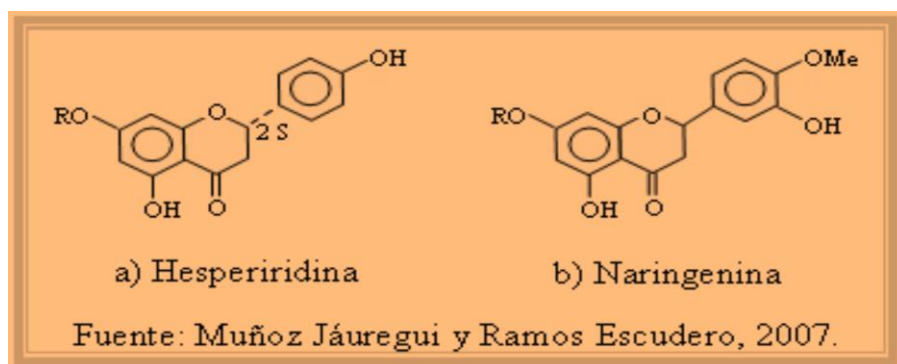
Fuente: (Vazquez, 2011); (Elaborado por: Cos y Col, 1998).

CUADRO 6. Estructura general de flavonas y flavonoles.



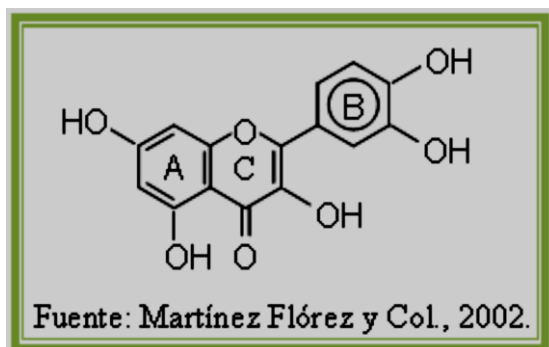
Fuente: (Vazquez, 2011); (Elaborado por Muñoz y Ramos, 2007)

CUADRO 7. Ejemplos de flavonas.



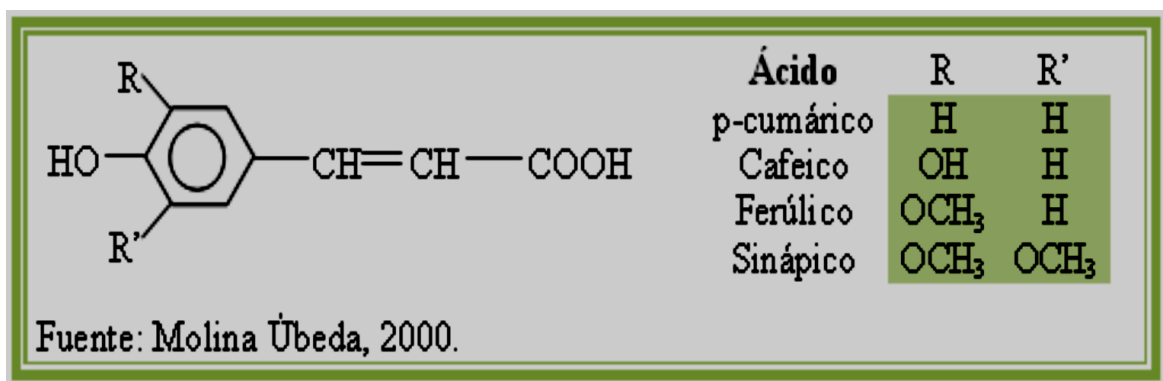
Fuente: (Vazquez, 2011) ; (Elaborado por Muñoz y Ramos, 2007).

CUADRO 8. Estructura de la quercetina.



Fuente: (Vazquez, 2011); (Elaborado por: Martínez Flórez y Col, 2002)

CUADRO 9. Estructura de los ácidos cinámicos.



Fuente: (Vazquez, 2011);(Elaborado por: Molina Úbeda, 2000).

El ácido cafeico es uno de los compuestos que intervienen en la actividad del propóleo contra *Staphylococcus aureus*., *Proteus vulgaris*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Helminthosporium sp.*, es poco activo frente a *Bacillus bombicis*, el *Streptococcus bombicis*, y es inactivo frente a *Escherichia coli*, *Streptococcus apis* y *Bacillus larvae*, la actividad antibacteriana del propóleo es mucho más notable en bacterias Gram – positivas que sobre las bacterias Gram – negativas (Asís, 2007) (Fierro, 2011).

Con el descubrimiento de la penicilina en 1928 y el advenimiento de los modernos antibióticos, se comenzó a dejarlo de lado, pero paradójicamente, en la actualidad esa tendencia ha comenzado a revertirse. Cuanto más se avanza en el descubrimiento de antibióticos más poderosos, más se necesitan

conocer las propiedades terapéuticas del propóleo, que a través de sus extractos parciales o totales, se ha mostrado efectivo contra cepas de gérmenes patógenos que ya adquirieron resistencia a los antibióticos tradicionales y que curiosamente con el tiempo no han mostrado resistencia al propóleo. (Asís, 1996.); (Necato Vinueza, 2005).

Las acciones terapéuticas del Propóleo están relacionadas con las estructuras moleculares que forman parte de su composición química:

- Flavonoides: galangina quercetina, crisina, tectocrisina, pinocembrina, y derivados.
- Derivados del ácido benzoico
- Derivados del benzaldehído: vainillina e isovainillina.
- Compuestos terpénicos.
- Aceites esenciales.

La acción antiinfecciosa del Propóleo se ha comprobado frente a un amplio espectro de bacterias Gram positivas y Gram negativas, como son:

- *Staphylococcus aureus* (Samara O. et al, 2011).
- *Streptococcus hemolyticus*.
- *Escherichia coli* (Bastos. et al, 2011).
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Proteus* sp.
- Así como frente a virus y
- *Cándida albicans* (Palomo G. et al, 2010).

La acción antiinflamatoria del Propóleo es debida a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y de histamina en el foco inflamatorio; su potencia antiinflamatoria local es similar a la del diclofenaco (APITER, 2011).

Varios estudios alrededor del mundo confirman la eficacia comprobada del Propóleo sobre un gran número de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, e incluso contra un hongo como la *Cándida albicans*, nos

demuestra esta investigación hecha en Portugal indica que con un compuesto hidroalcoholico de Propóleo en un análisis in vitro demostró que *Staphylococcus aureus* es la bacteria más sensible a este compuesto (Silva JC, 2012).

El consumo regular del propóleo con su efecto antibiótico y anti fúngico puede lograr una gran inmunidad del organismo (Guevara Guerra, 2010).

II MATERIALES Y METODOS

2.1. MÉTODOS.

2.1.1. UBICACIÓN Y SELECCIÓN DE ANIMALES.

La presente investigación se realizó desde Noviembre del 2012 hasta Abril del 2013 en la provincia del Azuay, cantón Cuenca en la parroquia de la Victoria del Portete, en 5 explotaciones del lugar, en los laboratorios de la facultad de Ciencias Agropecuarias (elaboración de los EEP), y Vetelab en Machachi (cultivos y antibiogramas) las muestras de propóleo se recolectaron en 3 apiarios de la zona de estudio.

2.1.2. UBICACIÓN Y CLIMA.

La Parroquia Victoria del Portete se encuentra ubicada al Sur del cantón Cuenca, provincia del Azuay. Tiene una superficie de 203,77 km²; esta parroquia representa el 5,67% aproximadamente de la superficie del cantón Cuenca.

Está ubicada a 25 kilómetros de distancia siguiendo la panamericana sur desde Cuenca, hasta llegar al centro parroquial, sus coordenadas son Longitud X = 715370 Latitud Y = 9661811 y su altura en sus paramos es de 3.880 m.s.n.m hasta el lugar más bajo que es 2.500 m.s.n.m, con temperaturas que son constantes a lo largo del año desde los 3° en la parte alta del Páramo hasta encontrarse con un clima menos frío y húmedo con temperaturas de 18° en la parte baja de la parroquia.

Área ganadera en donde se desarrolló el trabajo de investigación de campo en lo que comprende a la identificación de agentes que están presentes en la metritis clínica.

2.1.3. FORMA DE SELECCIÓN DE LOS ANIMALES.

a. Criterios de inclusión. En esta investigación utilizamos 10 vacas de raza Holstein desde el primer parto hasta el quinto parto, con una condición corporal de 2,50 a 3,50 desde el segundo día al vigésimo primero postparto, con antecedentes de partos distócicos, retención placentaria, fiebre de leche, abortos, y que sean evidentes las metritis clínicas.

b. Criterios de Exclusión. En esta investigación se excluyeron vacas de otras razas, mayores a seis partos, con condición corporal menor a 2,50 o mayor a 3,50 más de 21 días postparto, y que no tengan síntomas y signos evidentes a metritis clínicas, además que hayan recibido antibióticos hace menos de 30 días.

2.1.4. DESCRIPCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS.

La investigación constó de tres fases, y son las siguientes:

a. Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a partir de secreciones de metritis clínica bovina.

Se tomaron muestras de 10 vacas con metritis clínica, luego enviamos al laboratorio para hacer un cultivo, y poder identificar a las bacterias presentes en la metritis tanto Gram positivas, como Gram negativas, identificar al *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* con su respectivo antibiograma.

b. Consistió en poner trampas para el propoleo en nuestros apiarios, cosechamos y elaboramos los extractos EEP al 10% y 30% en el laboratorio clínico de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Cuenca.

- c. En esta fase comparamos los efectos de los extractos etanólicos de propóleo (EEP), frente al antibiótico comercial en este caso la Amoxicilina y Acido Clavulánico, que resultó ser el más sensible para las dos cepas de bacterias en un antibiograma para determinar su efectividad in vitro, identificamos el diámetro del halo de inhibición de los extractos de propóleo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

2.1.5. ELABORACIÓN DE LOS EEP (Extracto Etanólico de Propoleo) 10 y 30%.

En esta fase se recolectó el propóleo de las colmenas, el cual se sometió a purificación de impurezas mecánicas para luego formar extractos etanólicos.

Se instalaron las llamadas “trampas de propóleo”, que consistió en reemplazar la entre tapa por una malla de las mismas dimensiones. Se dejó un espacio abierto entre la trampa y la tapa, de manera que las abejas sientan la necesidad de cubrir este espacio ventilado con propóleo, induciendo así su producción. Esta trampa se la mantuvo durante 15 días, con este método de recolección de propoleo mediante mallas se obtuvo un propoleo de mejor calidad (Martinez et al, 2012).

La malla impregnada de propóleo se sacó del marco, se la enrolló y congeló por un periodo de 24 horas, para luego mediante golpes ligeros ser separado el propóleo de la malla, luego se procedió mediante un mortero a pulverizarlo. Con este procedimiento, se obtuvo propóleos con menos impurezas. - Obtenido el propóleo libre de impurezas se procedió a mezclarse en una proporción de:

75g de propóleo, aforando este peso a 250g con etanol de 96° de uso interno, sin antiséptico (alcohol potable). Obtuvimos un EEP al 30%.

25g de propóleo, aforando este peso a 250g con etanol de 96° de uso interno, sin antiséptico (alcohol potable). Obtuvimos un EEP al 10%.

Posteriormente se colocó esta mezcla en un frasco de vidrio color ámbar, se los recubrió con papel aluminio; de esta manera se aisló la mezcla de la luz del sol. Durante nueve días se procedió a agitar la mezcla durante quince minutos diarios en tres intervalos de cinco minutos cada uno. Se aseguró que el sedimento que quedo, pese de 30 a 33% menos del peso inicial de la masa, de esta manera se aseguró la obtención de un extracto etanólico con la mayor concentración posible (Necato Vinueza, 2005).

2.1.6. ANÁLISIS DE LABORATORIO.

Se tomó las muestras de las vacas que están dentro de los criterios de inclusión haciendo una infusión de solución salina fisiológica estéril mediante un catéter tipo Floyd, las muestras tomadas fueron transportadas al laboratorio en medios de transporte de Stuart y en cadena de frío.

Una vez en el laboratorio se realizó el respectivo cultivo utilizando el medio de ASB (agar sangre de borrego).

Del Cultivo puro se hicieron las pruebas diferenciales respectivas para identificar el agente causal de la metritis.

Una vez identificado el patógeno y partiendo del mismo cultivo puro se realizó el antibiograma utilizando una concentración de bacterias ajustada a la escala de Mc Farland 0.5 y utilizando el agar Muller Hinton se realizó el antibiograma en donde se emplearon sensidiscos indicados anteriormente para el tratamiento, para así verificar la sensibilidad o resistencia a cada uno de ellos.

Los cultivos puros de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, se siguieron manteniendo en medios de cultivo para mantenerlos vivos hasta el momento de confrontarlos con los sensidiscos del EEP.

Una vez listos los sensidiscos a las diferentes concentraciones se dieron el mismo tratamiento como cualquier antibiograma pero en esta ocasión

utilizando los sensidiscos de EEP, un testigo y un control, los sensidiscos que se utilizaron son estériles y de 10 mm de diámetro.

2.1.7. FACTORES EN ESTUDIO:

Propóleo:

P1: EEP 10% (propoleo al 10%)

P2: EEP 30% (propoleo al 30%)

P3: EEP 0 % (alcohol etílico 100%)

P4: antibióticos comerciales (Amoxicilina y Ácido Clavulánico)

2.1.8. DILUCIONES DEL AGENTE BACTERIANO.

Se utilizó una concentración bacteriana comparada a la escala de Mc Farland 0.5, debido a que para los antibiogramas solo se utiliza esta concentración.

2.1.9. PROCEDIMIENTO.

a. Diseño experimental.

Se realizó una prueba para la detección de la normalidad de la muestra que, en nuestro caso será una muestra de cuantiles.

CUADRO 10. Tratamientos y repeticiones.

% de EEP/ bacterias	# repeticiones	Halo de inhibición en mm	frecuencia acumulada
EEP 10% / Escherichia coli	13	—	—
EEP 30% / Escherichia coli	13	—	—
EEP10% / Staphylococcus aureus	13	—	—
EEP 30% / Staphylococcus aureus	13	—	—

Nuestro primer paso fue hallar el intervalo en que se encuentra nuestro cuantil: De un total de 52 datos.

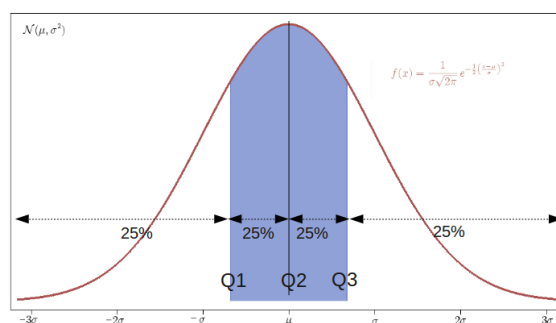


FIGURA 4. Cuantiles. (Wikipedia, Medidas de posición no central, 2012).

b. Número de repeticiones.

Para detectar si la diferencia entre muestras es significativa, empleamos pruebas t para la diferencia de medias.

Una vez calculados los tamaños muestrales, para tener una confiabilidad del 95%, realizamos 13 réplicas de cada medición.

Por cada tratamiento que será a concentración del 10% y 30% de EEP hicimos 13 repeticiones por cada microorganismo para tener valor que estadísticamente sean comparables.

Fueron 4 tratamientos y 13 repeticiones.

1.- EEP.10 % / *Staphylococcus aureus*: Mc. Farland 0.5 (13 repeticiones)

2. - EEP.30% / *Staphylococcus aureus*: Mc. Farland 0.5 (13 repeticiones)

3. - EEP. 10% / *Escherichia coli*: Mc. Farland 0.5 (13 repeticiones)

4. - EEP. 30% / *Escherichia coli*: Mc. Farland 0.5 (13 repeticiones)

Para tabular los resultados, utilizamos un programa de software fue el Minitab, versión 15.

2.2.MATERIALES:

Los materiales que se usaron en esta investigación fueron de diferente naturaleza debido al tipo de análisis, así tuvimos biológicos, químicos, físicos, etc.

2.2.1. Biológicos:

Propóleo

Muestras de metritis

2.2.2. Químicos:

Alcohol

Jabones

Desinfectantes

Antibióticos discos de sensibilidad.

CUADRO 11. Discos de sensibilidad para antibiogramas

(Vetelab 2012).

Amplio espectro	Gram positivas	Gram negativas
Amoxicilina y Acido Clavulánico.	Tetraciclina.	Enrofloxacin.
Cefalexina.	Cloxacilina.	Neomicina.
Sulfa trimetoprim.		
Gentamicina.		
Lincomicina.		

2.2.3. Físicos:

Palancas para recolectar el propóleo.

Mallas plásticas.

Guantes

Frascos de vidrio

Balanzas

Pipetas

Probetas

Embudos

Espéculos

Tubos ensayo

Cámara de fotos.

2.2.4. Material de escritorio:

Cuaderno

Esferos

Lápiz y borrador

Hojas de campo

Material bibliográfico de internet

Libros

Hojas de laboratorio

Hojas de papel bond INEM A4

Regla

Perforadora

Clips, carpetas y fotocopias.

III RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. RESULTADOS.

- Una vez aislados el *Staphylococcus aureus*, y la *Escherichia coli* de las muestras enviadas al laboratorio se procedió a cultivarlas y realizar el antibiograma respectivo obteniendo los siguientes resultados:

Microorganismo aislado	Sensible	Medianamente sensible	Resistente
<i>Staphylococcus aureus</i> .	Tetraciclina. Cefalexina. Sulfa trimetoprim. <i>Amoxicilina + Ac. Clavulánico.</i> Lincomicina. Gentamicina.		Cloxacilina.
<i>Escherichia coli</i> .	Enrofloxacin. Sulfa trimetoprim. <i>Amoxicilina + Ac. Clavulánico.</i> Gentamicina. Neomicina.	Cefalexina.	Lincomicina.

Siendo las dos bacterias sensibles a la Amoxicilina + Ac. Clavulánico. Se tomó este antibiótico para las comparaciones de los halos de inhibición con los EEP.

- Se elaboraron con éxito los dos EEP al 10% y 30% en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca,



- En el experimento se tomó la medida de los halos de inhibición como un indicador de la efectividad del tratamiento sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

En cada caso, se realizaron 13 repeticiones en las cuales se comparó, de manera pareada la efectividad del propóleo (en distintas concentraciones) frente a la Amoxicilina y Ácido Clavulánico antibiótico específico para las bacterias antes indicadas.

Con la información recogida, se realizaron pruebas estadísticas para detectar la diferencia entre los distintos tratamientos. Estadísticamente hablando, se efectuaron pruebas para la comparación de las medias entre tratamientos, con el empleo del programa estadístico Minitab, Versión 15.

Para todas las pruebas estadísticas se eligió un nivel de significación del 5%

Escherichia coli.

1. Se determinó si había diferencia en la efectividad (dada por la medida del halo de inhibición) entre el propóleo de concentración al 10% y una mezcla de Amoxicilina y Ácido Clavulánico.

Al realizar las mediciones se encontró que el propóleo al 10% y 30% no producen un halo de inhibición apreciable, por lo que en todas las mediciones se obtuvo el resultado de cero, como se aprecia en las siguientes tablas:

CUADRO 12.Antibiograma de *Escherichia coli* con EEP al 10%

Código	EEP 10% (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control Alcohol etílico (mm)
1	0	14	0
2	0	15	0
3	0	14	0
4	0	14	0
5	0	14	0
6	0	13	0
7	0	14	0
8	0	15	0
9	0	16	0
10	0	20	0
11	0	27	0
12	0	17	0
13	0	17	0

CUADRO 13. Antibiograma de *Escherichia coli* con el EEP al 30%

Código	EEP 30% (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control Alcohol etílico (mm)
1	0	15	0
2	0	14	0
3	0	14	0
4	0	15	0
5	0	16	0
6	0	15	0
7	0	15	0
8	0	14	0
9	0	14	0
10	0	14	0
11	0	14	0
12	0	14	0
13	0	13	0

De los resultados experimentales podemos deducir que el tipo de propóleo utilizado no tuvo efecto antibiótico sobre la *Escherichia coli*.

Staphylococcus aureus.

Los resultados que se encuentran en las tablas de datos nos permiten deducir que el propóleo empleado al 10% y 30% si tienen efectos antibióticos sobre el *Staphylococcus aureus*, de manera que si podemos realizar comparaciones entre las muestras, como observamos en las siguientes tablas.

CUADRO 14. Antibiograma de *Staphylococcus aureus*. Con EEP al 10%

Código	EEP 10% (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control (mm)
1	12	34	0
2	12	30	0
3	12	32	0
4	12	28	0
5	12	28	0
6	12	30	0
7	11	26	0
8	12	32	0
9	13	28	0
10	13	30	0
11	11	26	0
12	11	28	0
13	12	26	0

CUADRO 15. *Antibiograma de Staphylococcus aureus Con EEP al 30%.*

Código	EEP 30% (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control (mm)
1	13	25	0
2	11	24	0
3	11	25	0
4	12	24	0
5	13	24	0
6	11	24	0
7	11	25	0
8	11	26	0
9	12	23	0
10	11	25	0
11	13	24	0
12	11	24	0
13	12	24	0

En primer lugar, realizamos pruebas de igualdad de las varianzas de las muestras, para luego, y según los resultados preliminares efectuar las pruebas correspondientes que permitan comparar las medias de los halos de inhibición de los tratamientos.

PROPÓLEO AL 10% Y AMOXICILINA CON ÁCIDO CLAVULÁNICO.

1.- Prueba de igualdad de las varianzas.

Hipótesis nula: Las varianzas de las medidas de los halos de inhibición de los dos tratamientos son iguales.

Hipótesis alternativa: Las varianzas de los halos de inhibición de los dos tratamientos son distintas.

CUADRO 16. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Pruebas de igualdad de las varianzas del EEP al 10% y La Amoxicilina y Ácido Clavulánico.

Tratamientos	N	Inferior	Des. Está.	Superior
EEP 10% / E. a	13	0.43913	0.64051	1.14541
Amoxi. / E. a	13	1.73580	2.53185	4.52761

Prueba F (distribución normal)

Estadística de prueba = 0.06; valor p = 0.000

Decisión: Puesto que el Valor $P = 0.000 < 0.05$, aceptamos la hipótesis alternativa. Es decir, las varianzas de las medidas de los halos de inhibición producidos por los dos tratamientos son diferentes, estadísticamente es mayor la varianza de la Amoxicilina + A. Clavulánico.

En el siguiente gráfico se aprecia que la mediana de la medida del halo producida por el tratamiento de propóleo al 10% es menor que la mediana de la medida del halo producido por el tratamiento con Amoxicilina +A. Clavulánico.

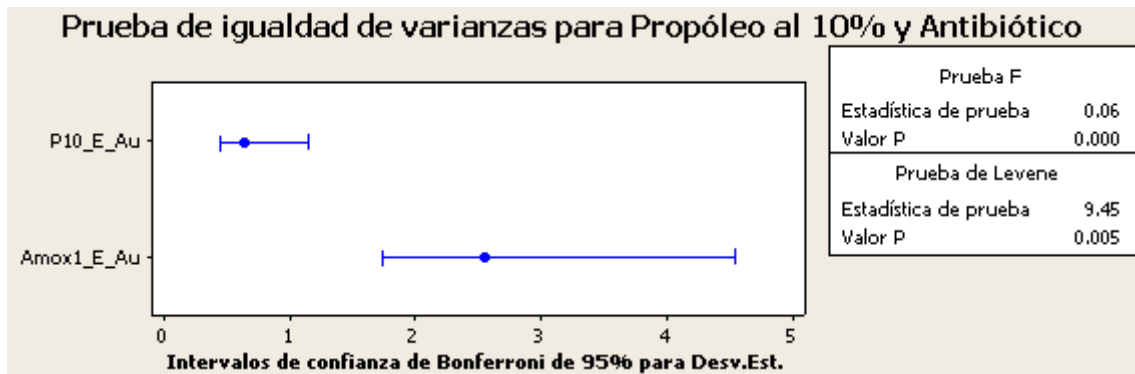


GRAFICO 1. Prueba de igualdad de varianzas para el EEP al 10%, Amoxicilina y Ácido Clavulánico.

Adicionalmente, a partir del gráfico 1. De los intervalos de confianza para la desviación estándar, podemos concluir que el propóleo tiene una menor variabilidad que el antibiótico, en lo que respecta a la medida del halo de inhibición.

1. Igualdad de medias.

Se va a probar si hay diferencia en la efectividad (dada por la medida del halo de inhibición) entre el propóleo de concentración al 10% y una mezcla de Amoxicilina y Ácido Clavulánico.

Este procedimiento lo realizaremos mediante dos pruebas estadísticas (que son equivalentes): la prueba de igualdad de medias para muestras con varianzas diferentes y, la prueba de análisis de la varianza (ADEVA).

a) Prueba de igualdad de medias para muestras con varianzas diferentes

Hipótesis nula: Los dos halos de sensibilidad del EEP al 10% y la Amoxicilina + Acido Clavulánico tienen la misma medida.

Hipótesis alternativa: El halo producido por el tratamiento con Amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que el producido con EEP al 10%.

CUADRO 17. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Igualdad de medias., T de dos muestras para Amoxi. Vs. EEP 10%.

Tratamientos	N	Media	Des. Está.	Media del Error Estándar
Amoxi. / S. aureus	13	29.08	2.53	0.70
EEP10%/ S. aureus	13	11.923	0.641	0.18

Diferencia = μ (Amoxi. / S. aureus) - μ (EEP 10% / S. aureus.)

Estimado de la diferencia: 17.154

Límite inferior 95% de la diferencia: 15.871

Prueba T de diferencia = 0 (vs. >): Valor T = 23.68 Valor P = 0.000 GL = 13

Decisión: Puesto que el Valor P= 0.000 < 0.05, aceptamos la hipótesis alternativa.

Es decir, el halo producido por el tratamiento con amoxicilina y ácido Clavulánico es mayor que el producido por el concentrado de propóleo al 10%.

b) Prueba de Análisis de la Varianza de 1 solo factor

Hipótesis nula: Los dos halos tienen la misma medida.

Hipótesis alternativa: El halo producido por el tratamiento con Amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que el producido con propóleo al 10%.

CUADRO 18. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Tabla ANOVA.

FUENTE	GL	SC	MC	F	P
FACTOR	1	1912.65	1912.65	560.85	0.000
ERROR	24	81.85	3.41		
TOTAL	25	1994.50			

S = 1.847 R-cuadrada. = 95.90% R-cuadrada. (Ajustado) = 95.73%

Decisión: Puesto que el Valor $P = 0.000 < 0.05$, aceptamos la hipótesis alternativa. Es decir, el halo producido por el tratamiento con amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que el producido por el concentrado de propóleo al 10%.

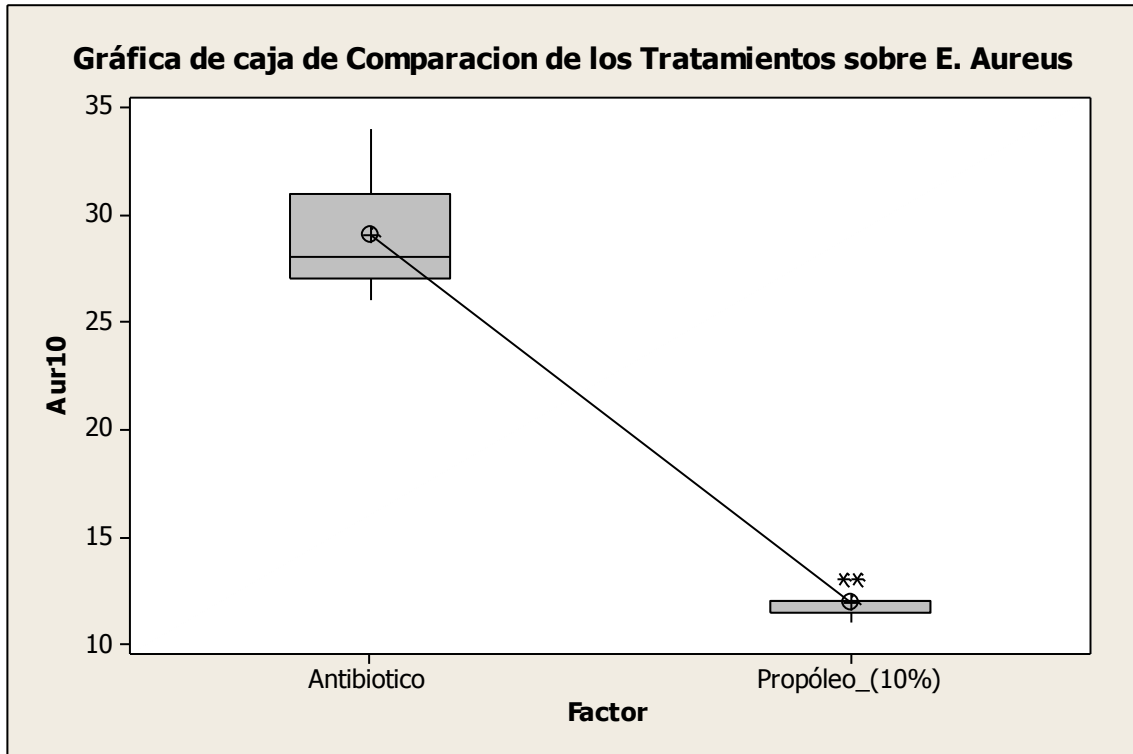


GRAFICO 2. Caja de comparación de la mediana de la medida de los halos producidos por los Tratamientos del EEP al 10% y Amoxicilina con Ácido Clavulánico sobre Staphylococcus aureus.

En el gráfico de comparación de los diagramas de caja de los dos tratamientos, claramente se aprecia que el halo de inhibición producido por la acción de la Amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que la producida por el propóleo a concentración del 10%.

PROPÓLEO AL 30% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO.

1. Prueba de igualdad de las varianzas.

Hipótesis nula: Las varianzas de las medidas de los halos de inhibición de los dos tratamientos son iguales.

Hipótesis alternativa: Las varianzas de los halos de inhibición de los dos tratamientos son distintas.

CUADRO 19. Prueba Estadística (obtenidos con el programa Minitab):

Prueba de igualdad de las varianzas.

Tratamientos	N	Inferior	Des. Esta.	Superior
EEP. 30% / S. aureus	13	0.586073	0.854850	1.52870
Amoxi. / S. aureus.	13	0.526494	0.767948	1.37329

Prueba F (distribución normal)

Estadística de prueba = 1.24; valor p = 0.716

Decisión: Puesto que el Valor P= 0.716 > 0.05, aceptamos la hipótesis nula. Es decir, las varianzas de las medidas de los halos de inhibición producidos por los dos tratamientos son iguales estadísticamente.

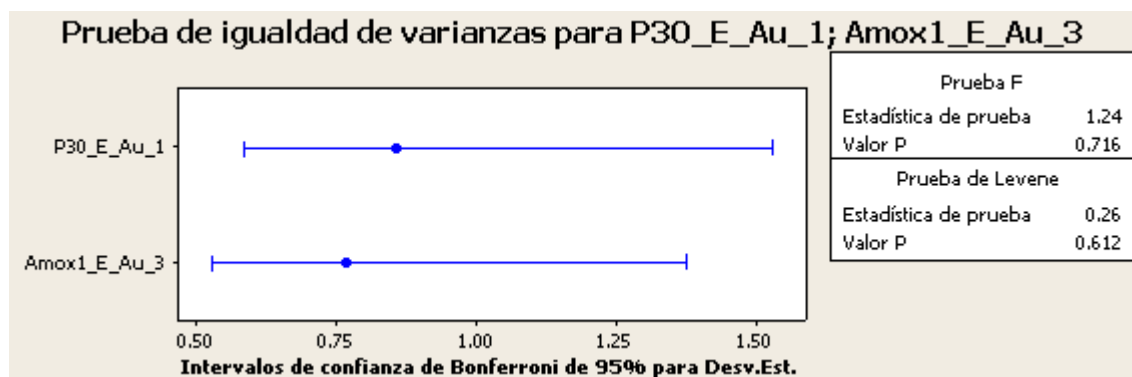


GRAFICO 3. Prueba de igualdad de varianzas entre el EEP 30% y la Amoxicilina con Ácido Clavulánico.

Claramente se aprecia en el gráfico 3 que las desviaciones estándar de las dos muestras son estadísticamente iguales.

2. Igualdad de medias.

Nuevamente vamos a someter a prueba las hipótesis de igualdad de las medias de las medidas de los halos de inhibición de los dos tratamientos, mediante una prueba de igualdad de medias y una prueba ADEVA.

a) Prueba de igualdad de medias para muestras con varianzas diferentes

Hipótesis nula: Los dos halos tienen la misma medida.

Hipótesis alternativa: El halo producido por el tratamiento con amoxicilina y ácido Clavulánico es mayor que el producido con propóleo al 30%.

CUADRO 20. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Igualdad de medias., T de dos muestras para Amoxi. Vs. EEP 30%.

Tratamientos	N	Media	Des. Esta.	Media del Error estándar
Amoxi. / S. aureus	13	24.385	0.768	0.21
EEP. 30% / S. aureus	13	11.692	0.855	0.24

Diferencia = μ (Amoxi. / S. aureus) - μ (EEP. 30% / S. aureus)

Estimado de la diferencia: 12.692

Límite inferior 95% de la diferencia: 12.147

Prueba T de diferencia = 0 (vs. >): Valor T = 39.82 Valor P = 0.000 GL = 24

Ambos utilizan Desviación .Estándar. Agrupada = 0.8126

Decisión: Puesto que el Valor P= 0.000 < 0.05, aceptamos la hipótesis alternativa. Es decir, el halo producido por el tratamiento con Amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que el producido por el concentrado de propóleo al 30%.

b) Prueba de Análisis de la Varianza de 1 solo factor

Hipótesis nula: Los dos halos tienen la misma medida.

Hipótesis alternativa: El halo producido por el tratamiento con Amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que el producido con propóleo al 30%.

CUADRO 21. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab):

Tabla ANOVA.

FUENTE	GL	SC	MC	F	P
FACTOR	1	1047.115	1047.115	1585.92	0.000
ERROR	24	15.846	0.660		
TOTAL	25	1062.962			

S = 0.8126 R-cuadrada. = 98.51% R-cuadrada.(ajustado) = 98.45%

Decisión: Puesto que el Valor $P = 0.000 < 0.05$, aceptamos la hipótesis alternativa.

Por lo tanto, el halo producido por el tratamiento con amoxicilina y Ácido Clavulánico es mayor que el producido por el concentrado de propóleo al 30% (véase el gráfico).

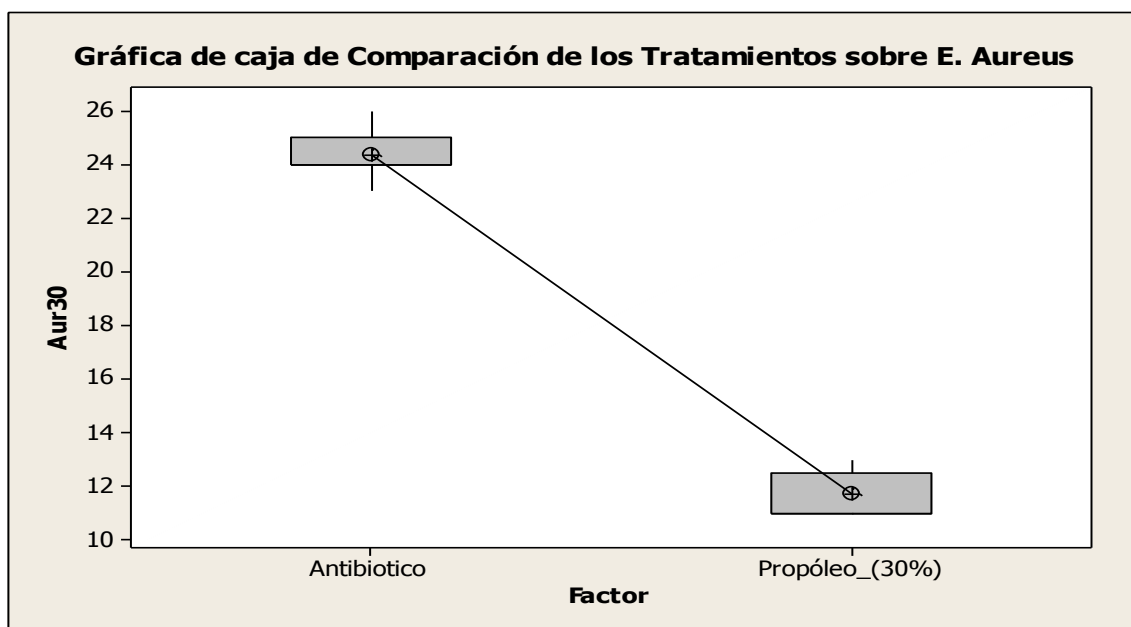


GRAFICO 4. Caja de comparación de la mediana de la medida de los halos producidos por los Tratamientos del EEP al 30% y Amoxicilina con Ácido Clavulánico sobre *Staphylococcus aureus*.

Como se ha probado, en los dos casos, que el tratamiento con Amoxicilina y Ácido Clavulánico produce halos de mayor medida que aquellos que producen los tratamientos con concentraciones de propóleo al 10% y al 30%, vamos a determinar estadísticamente si los dos tratamientos de propóleo producen similares resultados. Para ello se realizará una prueba de diferencia de medias.

Hipótesis nula: Los halos producidos por el concentrado de propóleo al 10% y al 30% tienen la misma medida.

Hipótesis alternativa: Los halos producidos por el concentrado de propóleo al 10% y al 30% no tienen la misma medida.

CUADRO 22. Estadísticos de prueba (obtenidos con el programa Minitab): Prueba de diferencia de medias entre el EEP al 10% y el EEP. Al 30%.

Tratamientos	N	Media	Des. Esta.	Media del Error Estándar
EEP.10%./ <i>S. aureus</i> .	13	11.923	0.641	0.18
EEP.30%./ <i>S. aureus</i> .	13	11.692	0.855	0.24

Diferencia = μ (EEP.10%./ *S. aureus*) - μ (EEP.30%./ *S. aureus*.)

Estimado de la diferencia: 0.231

Límite inferior 95% de la diferencia:- 0.276

Prueba T de diferencia = 0 (vs. <): Valor T = 0.78 Valor P = 0.222 GL = 24

Ambos utilizan Desviación Estándar agrupada = 0.7553

Decisión: Puesto que el Valor P= 0.222 > 0.05, aceptamos la hipótesis nula. Por lo que, los dos halos tiene la misma medida; lo que indica, que los dos concentrados de propóleo tienen la misma efectividad en el tratamiento del *Staphylococcus aureus*.

En el siguiente gráfico, apreciamos los diagramas de caja de las medidas de los halos producidos por los dos concentrados de propóleo. Como apreciamos, las

dos cajas se sobreponen, lo que indica que las medidas no difieren entre sí, estadísticamente hablando.

Lo que sí apreciamos es que el concentrado de propóleo al 30% da un halo ligeramente menor que el producido por el concentrado al 10%.

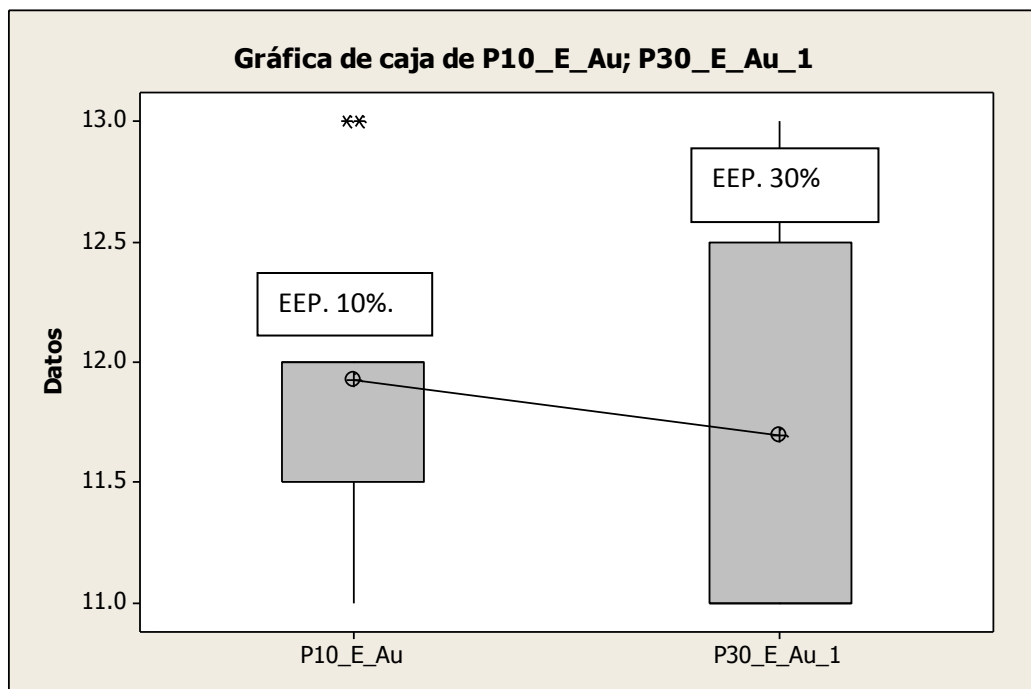


GRAFICO 5. Caja de comparación de la mediana de la medida de los halos producidos por los Tratamientos del EEP al 10% y el EEP. Al 30% sobre *Staphylococcus aureus*.

3.2. DISCUSIÓN.

Terminada la investigación podemos decir que los 2 tratamientos del EEP al 10% y 30% sobre *Staphylococcus aureus* formaron un halo de inhibición en donde todas las muestras presentaron actividad antibacteriana., No así los 2 tratamientos del EEP al 10% y 30% sobre *Escherichia coli* no mostraron actividad antibacteriana, contrariamente a la investigación realizada por Esther Alves de la universidad Nacional de Colombia en la que si encontraron actividad antibacteriana sobre las dos bacterias (Alves et al, 2010).

Los halos de inhibición de los EEP. Son fácilmente observables y medibles en los tratamientos contra *Staphylococcus aureus* teniendo una inhibición de 11,923 mm con EEP al 10% y 11.692 mm con EEP. Al 30%, resultados parecidos se encontraron en un estudio en Santiago del Estero de Argentina, en la que el diámetro promedio del halo de inhibición fue 10,680 mm, esto indica la existencia de actividad antibacteriana de los EEP al 10% (Chaillou et al, 2004).

En relación al testigo que en este caso es la Amoxicilina y Ácido Clavulánico tiene un mayor diámetro en su halo de inhibición en ambos tratamientos y repeticiones en este caso, no así los halos de inhibición de alcohol Etílico de 96° (control), no muestran halo de inhibición en ningún caso.

Los halos de inhibición de los EEP están dados por el propóleo. Y no por el alcohol etílico, varias investigaciones coinciden como en nuestro caso que los EEP. Tiene poca inhibición sobre *Escherichia coli*, o incluso nula como es el caso de la investigación realizada con Propóleo Iraní por (Trusheva et al, 2010).

Donde no fue encontrada actividad antibacteriana sobre dicha bacteria, en otra investigación como es el caso de la realizada por (Fernández et al) en el estado de Sao Paulo Brasil donde si encontraron actividad antibacteriana sobre

Staphylococcus aureus y *Escherichia coli*., Estos autores también reportaron una diferencia de medias entre las concentraciones inhibitorias y bactericidas con una equivalencia de 8.10 veces entre sí. Por otro lado, nuestros datos confirman los de la literatura de hacer hincapié en su sensibilidad inferior de las especies Gram-negativas frente a Gram-positivas (Fernandez Jr et al, 1995).

Se debe recalcar que la *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa con una membrana adicional denominada "Estructura OM" la cual les confiere un mayor grado de resistencia a los agentes antimicrobianos, es necesario sin embargo, probar el efecto del propóleo, en un número mayor de cepas bacterianas (Garcia et al, 2010).

Observamos que las concentraciones de EEP al 30% nos dan un halo de inhibición ligeramente menor a las concentraciones del 10%, debido a que mientras más concentrado es el EEP., por ser una resina tiene menor difusión sobre el Agar Muller Hinton resultados parecidos a los encontrados en otras investigaciones (Necato Vinueza, 2005).

IV CONCLUSIONES

1. Se ha demostrado que el propóleo no tiene ningún efecto sobre la *Escherichia coli*, ya que los resultados de las medidas de los halos de inhibición fueron iguales a cero.
2. Los discos de sensibilidad del alcohol etílico de 96 grados utilizados como control no dan halo de inhibición.
3. El propóleo generó resultados positivos al trabajar sobre *Staphylococcus aureus*, utilizando las dos concentraciones de propóleo, comprobándose que las medidas de los halos de inhibición generados por los tratamientos con propóleo son menores que los halos generados en los tratamientos con la Amoxicilina y el Ácido Clavulánico.
4. Las dos concentraciones de EEP. Al 10% y 30% dan resultados en su halo de inhibición antibacteriana similares, sobre *Staphylococcus aureus* estadísticamente hablando.
5. Se ha comprobado que a medida que aumenta la concentración del EEP; disminuye el halo inhibitorio.
6. Una característica que se pudo demostrar estadísticamente en los casos en que se empleó propóleo, las medidas de los halos tienen menor dispersión que las medidas de los halos cuando se emplearon antibióticos (recordando que el ancho de las cajas en los diagramas de caja es menor); Lo que significa que los concentrados de propóleo dan resultados más estables que los que producen los antibióticos. Esta propiedad es muy deseable en cualquier tipo de tratamiento, lo que permite emplear una misma concentración, sabiendo que los resultados serán similares.

V RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar propóleo contra *Staphylococcus aureus*.
2. Se recomienda realizar investigaciones que profundicen el tema de emplear propóleo como un sustituto natural de los antibióticos comerciales. El objetivo sería encontrar la concentración mínima inhibitoria (CMI) que permita tener resultados similares a los que se obtienen mediante el empleo de quimioterapicos comerciales.
3. Es necesario profundizar sobre el uso de los EEP sobre *Escherichia coli*, tratando de investigar si los resultados se debieron a la cepa de bacteria o al tipo de propóleo empleado, o si existe algún factor que genere estos resultados.
4. Las concentraciones de propóleo al 10% y al 30% producen halos de menor tamaño que los producidos por la Amoxicilina y Ácido Clavulánico señalando que el propóleo es un producto natural, que tiene muchas ventajas frente a los antibióticos comerciales, como son el precio, su facilidad de obtención y no produce reacciones indeseables.
5. Investigar con los dos concentrados de EEP. Al 10% y 30% para medir los resultados del tratamiento *in vivo*.
6. *Realizar otras investigaciones in vitro con otras bacterias que también causen Metritis puerperal bovina.*
7. Utilizar otros solventes como los extractos hidroalcoholicos de propóleo en futuras investigaciones.

VI BIBLIOGRAFÍA

- Abecia, A., & Forcada, F. (2010). *MANEJO REPRODUCTIVO EN GANADO OVINO*. ZARAGOZA: SERVET.
- Aguiar, C. (2011). *LOS PROPOLEOS PORTUGUESES SON UNA FUENTE IMPORTANTE DE BIOACTIVIDAD*. Braga - Portugal: Apimondia 2011.
- Aiello, S. (2000). *EL MANUAL MERCK DE VETERINARIA QUINTA EDICION*. Barcelona - España: Oceano.
- Alvarado Cerezo, A. E. (Julio de 2008). *EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA PARA EL TRATAMIENTO DE METRITIS PURULENTE EN VACAS LECHERAS*. Recuperado el 02 de Setiembre de 2012, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1119.pdf
- Alvarado Cerezo, A. E. (Julio de 2008). *EFFECTO DE LA APLICACION DE SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA PARA EL TRATAMIENTO DE METRITIS PURULENTE EN VACAS LECHERAS*. . Recuperado el 02 de Septiembre de 2012, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1119.pdf
- Alvarez M., S. (03 de Septiembre de 2012). *ORGANOLEPTIC CHARACTERIZATION AND PHYSICAL-CHEMISTRY OF PROPOLIS OF THE DEPARTMENT OF LA LIBERTAD, PERU*. Recuperado el 01 de Octubre de 2012, de Universidad Nacional Agraria La Molina: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologist/v10_n1/pdf/a04v10n1.pdf
- Alves Ferreira Bastos, E. M., Guzman, D., Figueroa, J., Tello, J., & de Olivera Scoaris, D. (08 de Julio de 2010). *ANTIMICROBIAL AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF PROPOLIS OF *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) FROM THE COLOMBIAN ANDES*. Recuperado el 08 de Septiembre de 2012, de <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v16n1/v16n1a13.pdf>
- Apiter. (2011). *PROPOLEO-D*. Buenos Aires de Argentina.
- Arguello Loaisiga, E., & Gonzalez Martinez, A. F. (Octubre de 2008). *EVALUACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA DE LA PROPOLINA EN EL TRATAMIENTO DE LA MASTITISBOVINA EN LA FINCA LA LUNA, EN EL*

- MUNICIPIO DE BOACO, DEPARTAMENTO DE BOACO. Recuperado el 09 de Septiembre de 2012, de <http://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnl73a694.pdf>
- Asís, M. (1991). *PROPOLEO EL ORO PURPURA DE LAS ABEJAS*. La Habana: CIDA (Centro de Informacion y Documentacion Agropecuario).
- Asís, M. (2007). *APITERAPIA 101 PARA TODOS cOMO USAR LOS 7 PRODUCTOS DE LA COLMENA PARA CURAR A UNA COMUNIDAD*. Miami Florida: Rodes Printing.
- BARTOLOME, J. (2009). ENDOCRINOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LA GESTACIÓN Y EL PARTO EN EL BOVINO. Buenos Aires.
- Bartolomé, J. (2009). www.producciónbovina.com/información técnica/criaparto/05parto fisio.pdf. Pag2. Recuperado el 20 de 11 de 2011
- Bastos, E., Galbiati, C., Loureiro, E., & Scoaris, D. (Octubre de 2011). *PHYSICO-CHEMICAL INDICATORS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BROWN PROPOLIS AGAINST ESCHERICHIA COLI*. Recuperado el 09 de Septiembre de 2012, de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352011000500032&script=sci_arttext
- Becaluva, F. (2006). www.producción-animal.com.ar. Recuperado el 15 de 11 de 2011
- Bellanda, O. (s.f.). [www.ecografiavet.com/pdf/Ecografia en ovejas y Cerdas.pdf](http://www.ecografiavet.com/pdf/Ecografia%20en%20ovejas%20y%20Cerdas.pdf). Recuperado el 15 de 11 de 2011
- Benzaquen ME, R. C. (06 de Junio de 2007). *Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows*. Recuperado el 08 de Marzo de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17517721>
- Blanc., L. (1 de Abril de 2008). *Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive*. Recuperado el 06 de Marzo de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18328749>: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18328749>
- Blood, D., & Radostits, O. (1992). *MEDICINA VETERINARIA. Libro de texto de las enfermedades del ganado vacuno, ovino, porcino, caprino y equino*. México D.F.: Nueva editorial interamericana.

- Blowey, R., & Weaver, A. (2006). *ATLAS A COLOR DE ENFERMEDADES Y TRASTORNOS DEL GANADO VACUNO 2DA EDICION*. Madrid - España: Elsevier.
- Botana, L. (2002). *FARMACOLOGÍA Y TERAPEÚTICA VETERINARIA*. España: McGraw Hill Interamericana .
- Boyezuk, D. (2007). *ECOGRAFÍA REPRODUCTIVA: PRECOCIDAD DIAGNÓSTICA EN NUESTROS ESTABLECIMIENTO GANADEROS*. (U. N. Plata, Ed.) La Plata, Argentina.
- Brito Capallejas , R. (1999). *FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL CON ELEMENTOS DE BIOTECNOLOGIA*. La Habana: Felix Varela.
- Brito Capallejas, R. (1999). *FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL CON ELEMENTOS DE BIOTECNOLOGIA*. La Habana: Felix Varela.
- Brito Capallejas, R., Blanco Alvarez, G. S., Calderon Centellez, R., Preval Aymerich, B., & Campos Pipaon, E. (2001). *PATOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL*. La Habana: Félix Varela.
- Cayul, A. A. (22 de Enero de 2003). *“ESTUDIO DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE USO FRECUENTE EN MEDICINA VETERINARIA, DE PATÓGENOS BACTERIANOS AISLADOS DE METRITIS BOVINA EN REBAÑOS LECHEROS DE LA DÉCIMA REGIÓN”*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvc385e/doc/fvc385e.pdf>
- Chaillou, L. L., Herrera, H. A., & Maidana, J. F. (Marzo de 2004). *ESTUDIO DEL PROPOLEOS DE SANTIAGO DEL ESTERO, ARGENTINA*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612004000100003&script=sci_arttext&tlng=es
- Cruz Barrazueta, L. E. (24 de Agosto de 2009). *EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE VACAS HOLSTEIN CON METRITIS TRATADAS CON CEFALOSPORINAS Y OXITETRACICLINA*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/873/1/93528.pdf>
- Cunningham, J. (2009). *FISIOLOGÍA VETERINARIA* (4º edición ed.). Barcelona: Elsevier.
- Department of Surgery and Obstetrics, C. o. (18 de Eneero de 2008). *Postpartum uterine infection in cattle. (Anim Reprod Sci. 2008)*. Recuperado el 08 de Marzo de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18280065>

- Díaz Peñafiel, C. A. (26 de Junio de 2008). *Determinación de residuos de antibióticos y sulfonamidas en seis marcas comerciales de leche de mayor consumo en la ciudad de Riobamba*. Recuperado el 26 de Septiembre de 2012, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1604/1/17T0847.pdf>
- Dunlop, R., & Henri Malbert, C. (2004). *FISIOPATOLOGÍA VETERINARIA*. Zaragoza: Acribia.
- Duran Ramirez, F. (2006). *VOLVAMOS AL CAMPO VADEMECUM VETERINARIO*. Bogota - Colombia: Grupo Latino Ltda.
- Echeverría, J. (1 de 1 de 2006). ENDOCRINOLOGÍA REPRODUCTIVA: PROSTAGLANDINA F2ALFA EN VACAS. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, II.
- Espinoza R., J. (1997). *LA CASA DE LAS ABEJAS*. Quito - Ecuador.: Graficas ARPI.
- Farnesi AP, A.-F. R. (02 de Agosto de 2009). *EFFECTS OF STINGLESS BEE AND HONEY BEE PROPOLIS ON FOUR SPECIES OF BACTERIA*. Recuperado el 13 de Agosto de 2012, de [http://www-ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19554760](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19554760)
- Fernandez Jr., A., Suguizaki, M., Fogo, M., Funari, S., & Lopez, C. (1995). *IN VITRO ACTIVITY OF PROPOLIS AGAINST BACTERIAL AND YEAST PATHOGENS ISOLATED FROM HUMAN INFECTIONS*. Recuperado el 18 de Agosto de 2012, de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0104-79301995000200003&script=sci_arttext
- Fierro, W. (2011). *EXPERIENCIA CLINICA CON PROPÓLEOS EN INFECCIONES STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE DE ORIGEN COMUNITARIO (SAMR com)*. Montevideo - Uruguay.: Aimondia 2011.
- Flores, E., Vega, J., & Tello, V. (2007). *EFFECTOS DEL USO DE UN PROGESTÁGENO (CIDR-B), TEMPRANAMENTE POST - INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO EN LA FERTILIDAD DE VACAS LECHERAS ALTA PRODUCTORAS*.
- Galarza., L. R. (2011 Del 21 Al 25 de Septiembre). APIMONDIA 2011. BUENOS AIRES - ARGENTINA.

- Galina , C., & Valencia, J. (2009). *REPRODUCCION DE ANIMALES DOMESTICOS*. México: Limusa S.A.
- Garcia, P., Rossana, L., Martinez Galan, J. P., Garcia Pajon, C. M., Gil Gonzalez, J. H., & Durango Restrepo, D. L. (2010). *PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROPOLIS FROM MUNICIPALITY OF THE UNION (ANTIOQUIA COLOMBIA)*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de Redalyc: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/1799/179914617015.pdf>
- GRUNERT, E. E. (1992). *OBSTETRICA DEL BOVINO* (2º edición ed.). Bueno Aires, Argentina: Hemisferio Sur S.A.
- Guevara Guerra, G. (2010). *UN GRAN REGALO LA APITERAPIA*. Guayaquil - Ecuador: Alejandro Montenegro.
- Hafez, E. (1996). *REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL EN ANIMALES*. México D.F.: Nueva editorial interamericana, S.A. de C.V.
- Hafez, E. S. (2002). *REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN EN ANIMALES DOMÉSTICOS*. México: McGraw Hill Interamericana.
- Hafez, E., & Hafez, B. (2002). *REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL EN ANIMALES SEPTIMA EDICION*. México: Mc. Graw Hill.
- Hernandez, J. M. (2001). (U. A. México, Ed.) Recuperado el 20 de 11 de 2011
- Hernandez, J. (s.f.). *www.fmvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRgZooG010.pdf*.
- Hincapié S., J., Campo Pipaon, E., & Blanco, G. (2008). *TRASTORNOS REPRODUCTIVOS EN LA HEMBRA BOVINA*. Tegucigalpa: Litocom.
- Hincapie, J. (2005). *REPRODUCCIÓN ANIMAL APLICADA: FUNDAMENTOS DE FISIOLÓGÍA Y BIOTECNOLOGÍA*. HONDURAS: Litocom Editores.
- Hincapié, J. J., Brito Capallejas, R., & Campo Pipaon, E. (2005). *REPRODUCCION ANIMAL APLICADA : FUNDAMENTOS DE FISIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA*. Tegucigalpa: Litocom.
- Holy, L. (1986). *BASES BIOLÓGICAS DE LA REPRODUCCIÓN BOVINA* (2º edición ed.). México: DIANA, S.A.

- Intervet. (2007). *COMPENDIUM DE REPRODUCCIÓN ANIMAL*. Montevideo, Uruguay: Intervet Internacional.
- JM, S., & V., B. (27 de Enero de 2011). *PROPOLIS: IS THERE A POTENTIAL FOR THE DEVELOPMENT OF NEW DRUGS*. Recuperado el 11 de Agosto de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20970490>
- K., G. G. (3-4 de Diciembre de 2009). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19269117#>. Recuperado el 07 de Marzo de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19269117#>
- Larson, S. B. (2007). *PREGNANCY RATES IN LACTATING DAIRY CATTLE FOLLOWING SUPPLEMENTATION OF PROGESTERONE AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION*.
- Lenis, Y. e. (2010). *INTERFERON TAU EN LA VENTANA DE RECONOCIMIENTO MATERNO EMBRIONARIO BOVINO*. Universidad de Ciencias Agropecuarias Aplicadas y Ambientales.
- Lopez, A. e. (2008). *RECONOCIMIENTO MATERNO DE LA PREÑEZ E IMPLANTACIÓN DEL EMBRIÓN: MODELO BOVINO*. Anelecta Vet.
- Luna Limaico, C. G. (2011). *ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS PROMOTORES INMUNOLOGICOS DE ORIGEN NATURAL (PROPOLEO, POLEN) Y SU INSIDENCIA EN LA PRODUCCION DE POLLOS DE ENGORDE, EN EL SECTOR EL TEJAR, PROVINCIA DE IMBABURA*. Recuperado el 08 de Septiembre de 2012, de <http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/161/1/T72598.pdf>
- Martinat - Botte, F., & al, e. (2005). *ULTRASONOGRAFÍA Y REPRODUCCIÓN EN CERDAS* (1º edición ed.). Buenos Aires: Inter-médica.
- Martínez Fernández, A., Silveira Prado, E. A., & López Rojas, O. F. (10 de Octubre de 2006). *LAAS INFECCIONES UTERINAS EN LA HEMBRA BOVINA*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006/100606.pdf>
- Martinez, J., Garcia, C., Durango, D., & Gil, J. (Abril de 2012). *CHARACTERIZATION OF PROPOLIS FROM MUNICIPALITY OF CALDAS OBTAINED THROUGH TWO COLLECTION METHODS*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3894996>

- McDonald, L. (1981). *REPRODUCCIÓN Y ENDOCRINOLOGÍA VETERINARIAS* (3º edición ed.). México: Interamericana.
- Mendizabal, F. (2005). *ABEJAS*. Buenos Aires: Albatros SACI.
- Merchant, & Packer. (1970). *BACTERIOLOGIA Y VIROLOGIA VETERINARIAS*. Zaragoza - España: Acribia.
- Miguel MG, A. M. (03 de Octubre de 2011).
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?db=pubmed&cmd=link&linkname=pubmed_pubmed&uid=22219581. Recuperado el 05 de Marzo de 2012, de
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?db=pubmed&cmd=link&linkname=pubmed_pubmed&uid=22219581
- Moreira, O., & Morales, C. (2001). *EFFECTO DEL INTERFERÓN RECOMBINANTE BOVINO OMEGA I SOBRE EL INTERVALO INTERESTRAL, TIEMPO DE VIDA DEL CUERPO LÚTEO Y LA TEMPERATURA CORPORAL EN EL BOVINO*.
- Nassar, S., Mohamed, A., & Soufy, H. (2 de mayo de 2012). *IMMUNOSTIMULANT EFFECT OF EGYPTIAN PROPOLIS IN RABBITS*. Recuperado el 6 de Agosto de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22654648>
- Necato Vinueza, S. F. (2005). *USO DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE PROPÓLEO PARA EL CONTROL DE Staphylococcus aureus IN VITRO OBTENIDOS DE LECHE DE VACAS CON MASTITIS*. Recuperado el 24 de Septiembre de 2012, de
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2593/1/T-ESPE-IASA%20I-002858.pdf>
- Nicolet, J. (1986). *COMPENDIO DE BACTERIOLOGIA MEDICA VETERINARIA*. Zaragoza - España: Acribia.
- Palomono Garcia, L. R., Martinez Galan, J. P., Garcia Pajon, C. M., Gil Gonzalez, J. H., & Durango Restrepo, D. L. (Enero de 2010). *CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL PROPÓLEOS EN EL MUNICIPIO*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/1799/179914617015.pdf>
- Peña, G. (14 de Marzo de 2009). http://www.labis.com/articulos_detalle.php?id=4. Recuperado el 03 de Marzo de 2012, de
http://www.labis.com/articulos_detalle.php?id=4

- Perea, F. (2005). ECOGRAFÍA REPRODUCTIVA. EN *MANUAL DE GANADERIA* (pág. 58 pdf). Trujillo, Venezuela.
- Pérez Piñeiro, A. (2007). *MANUAL DE APICULTURA*. La Habana: Agrinfor.
- Perez, F. (2004). *RECONOCIMIENTO MATERNAL DE LA GESTACIÓN*. Madrid: Real Academia Nacional de Medicina.
- Plumb, D. (2010). *MANUAL DE FARMACOLOGÍA VETERINARIA*. Buenos Aires: Inter-médica.
- Rippe, C. (2009). EL CICLO ESTRAL. *DAYRI CATTLE REPRODUCCION*, (pág. 6). Miniapolis.
- Rodriguez, A. (2011). APIMONDIA 2011. BUENOS AIRES ARGENTINA.
- Russe, M. (1987). *EL PARTO EN EL ESTABLO Y EN EL CAMPO*. ARGENTINA: Hemisferio Sur.
- Samara Ortega, N., Benitez Campo, N., & Cabezas Fajardo, F. (16 de Marzo de 2011). *ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND CUALITATIVE COMPOSITION PROPOLIS FROM TWO CLIMATIC REGIONS CAUCA DEPARTMENT*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2012, de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n1/v9n1a02.pdf>
- Sammataro, D., & Avitabile, A. (2005). *EL MANUAL DEL APICULTOR*. Buenos Aires: Letemendia.
- Sanchez R., C. (2003). *CRIANZA Y PRODUCCION DE ABEJAS*. Lima- Perú: Ripalme.
- Silva JC, R. S. (5 de Marzo de 2012). *ANTIMICROBIAL ACTIVITY, PHENOLIC PROFILE AND ROLE IN THE INFLAMMATION OF PROPOLIS*. (PubMed) Recuperado el 8 de Abril de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22425940>
- Sumano, H. O. (2006). *FARMACOLOGÍA VETERINARIA*. México: McGraw Hill Interamericana.
- Torres, F. (2004). *DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA SÉRICA EN VAQUILLONAS TRATADAS CON IMPLANTE DE PROGESTERONA (Cuemate-Pfizer)*.
- Tovalino F, M., Quispe, S., & Contreras, S. (20 de Enero de 2010). *EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO*

ETANÓLICO DE PROPÓLEO DE OXAPAMPA – PERÚ SOBRE CULTIVOS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175) Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ATCC 25923). Recuperado el 30 de Septiembre de 2012, de http://www.upch.edu.pe/FAEST/publica/2010/vol20_n1/Vol20_n1_10_art3.pdf

Trusheva, B., Todorov, I., Ninova, M., Najdenski, H., Daneshmand, A., & Bankova, V. (29 de Marzo de 2010). *ANTIBACTERIAL MONO-AND SESQUITERPENE ESTERS OF BENZOIC ACIDS FROM IRANIAN PROPOLIS.* Recuperado el 13 de Agosto de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2851693/?tool=pubmed>

Vatti, G. (1969). *GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA VETERINARIAS.* México: Union Grafica.

Vazquez, J. (21 de Octubre de 2011). *CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA DE LOS PROPÓLEOS PRODUCIDOS EN DISTINTO ORIGEN GEOGRÁFICO EN LA REGIÓN APÍCOLA I - CUENCA DEL SALADO, PCIA. DE BUENOS AIRES.* Recuperado el 13 de Agosto de 2012, de <http://riunet.upv.es/handle/10251/12264>

Vázquez, J. C. (2010). *CARACTERIZACION BOTANICA DE LOS PROPOLEOS PRODUCIDOS EN DISTINTO ORIGEN GEOGRAFICO EN LA REGION APICOLA I CUENCA DEL SALAD, PCIA. DE BUENOS AIRES.* Recuperado el 08 de Septiembre de 2012, de <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=81318808015>

Veterinarias, S. L. (2001). *www.producción-animal.com.ar.* Recuperado el 7 de Noviembre de 2011, de SITIO ARGENTINO DE PRODUCCIÓN ANIMAL.

Villena Fernandez, E. (2008). *MANUAL TECNICO DE GANADERIA.* Madrid - España: Cultural S.A.

Wendy J. Arndt, A. J. (s.f.). *www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2757707/.* Recuperado el 14 de septiembre de 2012

Wikipedia. (13 de Septiembre de 2012). *ESCHERICHIA COLI.* Recuperado el 15 de Octubre de 2012, de http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

Wikipedia. (27 de Septiembre de 2012). *MEDIDAS DE POSICION NO CENTRAL.* Recuperado el 09 de Octubre de 2012, de http://es.wikipedia.org/wiki/Medidas_de_posici%C3%B3n_no_central

Wikipedia. (27 de Septiembre de 2012). *MEDIDAS DE POSICION NO CENTRAL*. Recuperado el 09 de Octubre de 2012, de MEDIDAS DE POSICION NO CENTRAL:

http://es.wikipedia.org/wiki/Medidas_de_posici%C3%B3n_no_central

Wikipedia. (04 de Octubre de 2012). *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. Recuperado el 15 de Octubre de 2012, de

http://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

Zenjanis, R. (1985). *REPRODUCCIÓN ANIMAL: DIAGNÓSTICO Y TÉCNICAS TERAPÉUTICAS* (9º reimpresión ed.). México, México: Limusa.

ANEXOS

Anexo 1.

Formatos de recolección de la información.

Cuadro descriptivo de la recolección de propóleo.

Ubicación del Apiario:

Fecha:

Fecha	Ubicación Del Apiario	Numero de colmena	Gramos recolectados
Total gramos.			

Anexo 2.

Cuadro descriptivo de los animales con metritis clínica.

Nombre de la Hacienda:

Ubicación:

Fecha:

Núm. Nombre.	Edad Años	C.C	N. Partos	F. Parto	Útero	Secreción		Diagnostico Clínico	Cultivo	Obs.
						color	Olor			

Anexo 3.

Cuadro descriptivo de los antibiogramas con sensidiscos de EEP al 10%.

Numero de caja Petri.

Fecha:

Nombre del tratamiento	Numero de repetición	Diámetro del halo de inhibición	Observaciones

Cuadro descriptivo de los antibiogramas con sensidiscos de EEP al 30%.

Numero de caja Petri.

Fecha:

Nombre del tratamiento	Numero de repetición	Diámetro del halo de inhibición	Observaciones

Cuadro descriptivo de los antibiogramas con sensidiscos comerciales.

Numero de caja Petri.

Fecha:

Nombre del tratamiento	Numero de repetición	Diámetro del halo de inhibición	Observaciones

Anexo 4. Análisis del laboratorio.



REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 13-146

Fecha de Recepción: 2013-01-25

Fecha de Reporte: 2013-01-29

Hora de Recolección: -----

Hora de Recepción: 11:23

Propietario: Dr. Luis Galarza

Hacienda: -----

Teléfono: 0331 444 370

Dirección: Cuenca

Remite: Dr. Galarza

Muestras tomadas por: Dr. Galarza

Número de muestras: 4 de secreción uterina

Especie: Bovina

Raza: -----

Sexo: Hembras

Edad: Varias

RESULTADOS

Examen Solicitado: Cultivo y Antibiógrama

Código: **1**

Identificación: **432**

Parto: **Quinto**

Microorganismo aislado: Crecimiento abundante de *Streptococcus spp.*

Código: **2**

Identificación: **514**

Parto: **Cuarto**

Microorganismo aislado: Crecimiento abundante de *Klebsiella spp.*

Código: **3**

Identificación: **529**

Parto: **Tercer**

Microorganismo aislado: Crecimiento abundante de *Escherichia coli*.

ANTIBIOGRAMA

Sensible: Enrofloxacina, Sulfatrimetoprim, Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Gentamicina, Neomicina.

Medianamente sensible: Cefalexina.

Resistente: Lincomicina.



Código: **4**
Identificación: **323**
Parto: **Segundo**

Cultivo: Sin Desarrollo hasta las 72 horas de incubación.

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.

Marta María José Sánchez Ayala
Jefe de Laboratorio

* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.

Anexo 5. Análisis del Laboratorio.



REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 13-204

Fecha de Recepción: 2013-02-01

Fecha de Reporte: 2013-02-05

Hora de Recolección: -----

Hora de Recepción: 10:30

Propietario: Dr. Luis Galarza

Hacienda: -----

Teléfono: 0391 444 970

Dirección: Cuenca

Remite: Dr. Galarza

Muestras tomadas por: Dr. Galarza

Número de muestras: 1 de secreción uterina

Especie: Bovina

Raza: -----

Sexo: Hembra

Edad: -----

RESULTADOS

Examen Solicitado: Cultivo y Antibiógrama

Código: **1**

Identificación: **167**

Microorganismo aislado: Crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

ANTIBIOGRAMA

Sensible: Tetraciclina, Cefalexina, Sulfatrimetoprim, Amoxicilina + Ac. Clavulánico,
Lincomicina, Gentamicina.

Medianamente sensible: -----

Resistente: Cloxacilina.

NOTA: El resultado es válido únicamente para la muestra recibida y procesada en el laboratorio.

Mrb. María José Sánchez Ayala
Jefe de Laboratorio

*Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de
Vetelab Cía. Ltda.

Anexo 6. Análisis del Laboratorio.



REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 13-222

Fecha de Recepción: 2013-02-04

Fecha de Reporte: 2013-02-08

Hora de Recepción: -----

Hora de Recepción: 17:00

Propietario: Dr. Luis Galarza

Hacienda: -----

Dirección: Quenca

Remite: Dr. Galarza

Muestras tomadas por: Dr. Galarza

Teléfono: 0991444970

Número de muestras: -----

Especie: -----

Raza: -----

Sexo: -----

Edad: -----

RESULTADOS

Examen Solicitado: Antibiograma de *Staphylococcus aureus*

Código	EEP 102 (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control (mm)
1	12	34	0
2	12	30	0
3	12	32	0
4	12	28	0
5	12	28	0
6	12	30	0
7	11	26	0
8	12	32	0
9	13	28	0
10	13	30	0
11	11	26	0
12	11	28	0
13	12	26	0

Examen Solicitado: Antibiograma de *Staphylococcus aureus*

Código	EEP 302 (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control (mm)
1	13	25	0
2	11	24	0
3	11	25	0
4	12	24	0
5	13	24	0
6	11	24	0
7	11	25	0
8	11	26	0
9	12	23	0
10	11	25	0
11	13	24	0
12	11	24	0
13	12	24	0

Examen Solicitado: Antibiograma de *Escherichia coli*

Código	EEP 102 (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control (mm)
1	0	14	0
2	0	15	0
3	0	14	0
4	0	14	0
5	0	14	0
6	0	13	0
7	0	14	0
8	0	15	0
9	0	16	0
10	0	20	0
11	0	27	0
12	0	17	0
13	0	17	0

Examen Solicitado: Antibiograma de *Escherichia coli*

Código	EEP 30% (mm)	Amoxicilina + Ácido Clavulánico (mm)	Control (mm)
1	0	15	0
2	0	14	0
3	0	14	0
4	0	15	0
5	0	16	0
6	0	15	0
7	0	15	0
8	0	14	0
9	0	14	0
10	0	14	0
11	0	14	0
12	0	14	0
13	0	13	0

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.

Merck, Myriam Hermosa T.
Jefe de Laboratorio

*Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.

Anexo 7. Fotografías.



Foto 1: Selección de los animales.



Foto 2: Toma de muestras uterinas.

Anexo 8. Fotografías.



Foto 3: Toma de muestras.



Foto 4: Envío de muestras al laboratorio

Anexo 9. Fotografías.



Foto 5: Apiario de la Loma Amarilla



Foto 6: Apiario de El Estadio



Foto 7: apiario Del Descanso

Anexo 10. Fotografías:

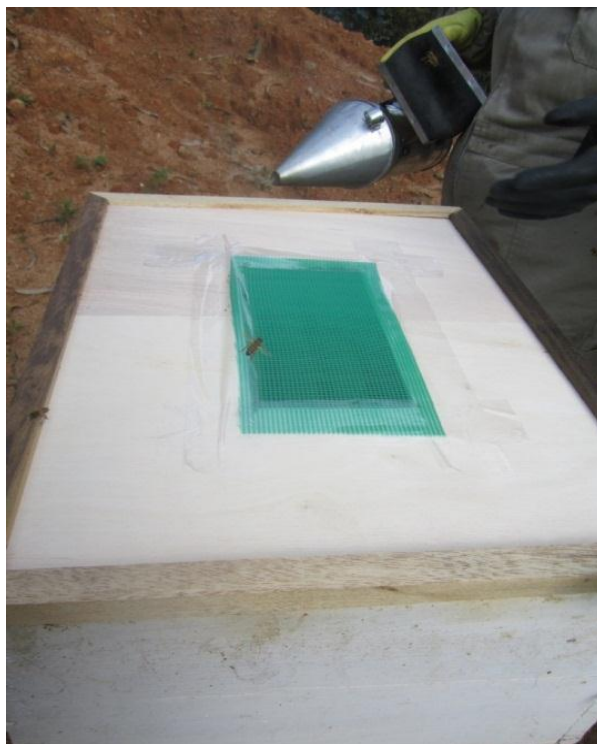


Foto 8: Instalación de las trampas de Propoleo.



Foto 9: Trampas llenas de Propoleo.

Anexo 11. Fotografías:



Foto 10: Propoleo en hojuelas.



Foto 11: Elaboración de los EEP.

Anexo 12. Fotografías:



Foto 12: Dr. Saúl Landívar elaborando los EEP.

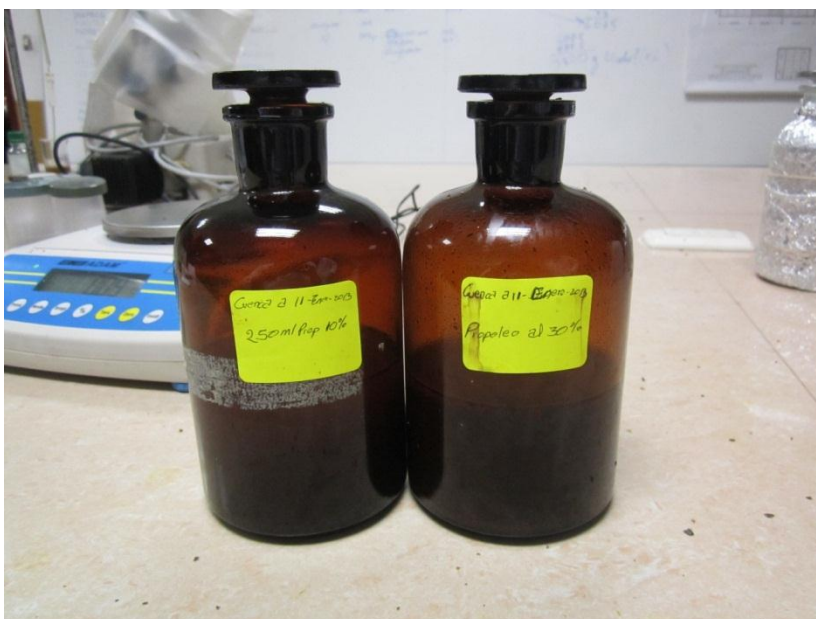


Foto 13: Extractos Etanólicos de Propoleo al 10% y 30%.

Anexo 13. Fotografías:



Foto 14: Filtrado de los EEP.



Foto 15: EEP. Terminados.

Anexo 14. Fotografías:



Foto 16: En el laboratorio de microbiología elaborando discos de sensibilidad



Foto 17: Discos de sensibilidad de Alcohol Etílico y EEP al 30%

Anexo 15. Fotografías:



Foto 18: Realizando las siembras en el laboratorio.



Foto 19: Resultados de las siembras en cajas Petri.

Anexo 16. Fotografías:



Foto 20: Lectura de resultados de *Staphylococcus aureus* y EEP al 10%.



Foto 21: Lectura de resultados de *Staphylococcus aureus* y EEP al 30%.

Anexo 17. Fotografías:

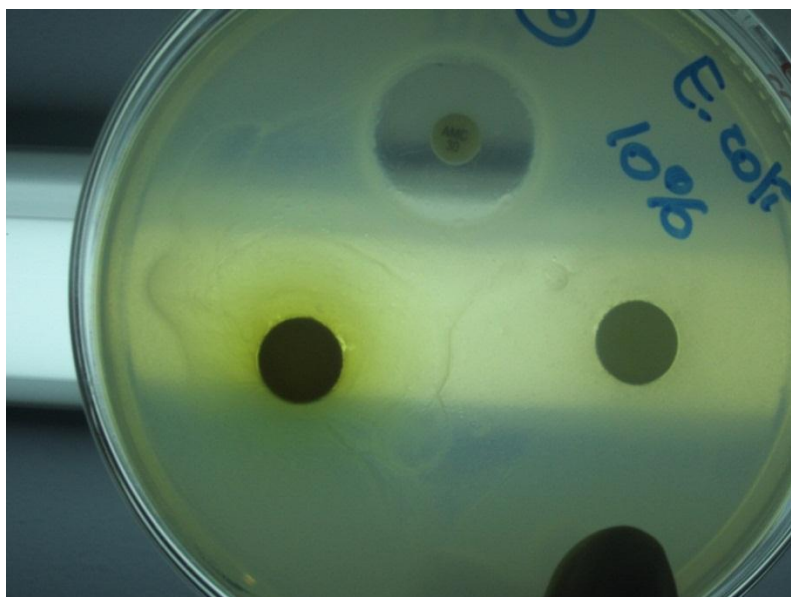


Foto 22: Lectura de resultados de Escherichia coli y EEP al 10%.

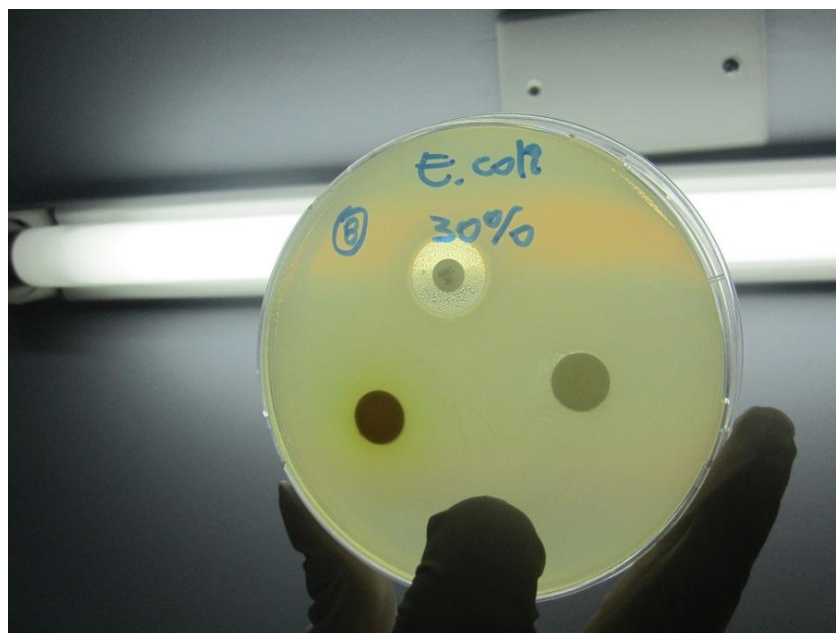


Foto 23: Lectura de resultados de Escherichia coli y EEP al 30%.

Anexo 18. Fotografías.



Foto 24: Revisión de literatura.



Foto 25: Por su puesto el EEP.